

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Saad DAHLEB BLIDA**



**Faculté des sciences**

**Département de Chimie**

N° d'ordre.....

N° de série.....

## **Mémoire**

*Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Spécialité : Chimie des produits naturels*

*Thème*

**Etude de la composition chimique et évaluation des activités  
biologiques des extraits d'une espèce du genre *Plocama*.**

**Présenté par :**

- MOHAMMEDI Meriem

- ELKINAI Soumia

**Devant le jury :**

**Présidente**

**Mme. HAMICHE Sonia**

**Maitre de conférences B**

**Examinatrice**

**Mme. ESSEID Chahrazed**

**Maitre de conférences B**

**Promoteur**

**Mr. MEZRAG. A**

**Maitre de conférences B**

**Année universitaire 2022/2023**

## **Remerciements**

*Avant tout nous remercions Dieu tout puissant qui nous données la force, le courage, la volonté, la patience et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.*

*Nous voudrions témoigner de nos remerciements et nos gratitude à notre Encadreur **Mr. Abderrahmane MEZRAG** pour la confiance qu'il nous a accordée, son assistance, sa disponibilité, sa compréhension et ses conseils qui nous ont beaucoup aidé à réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier profondément **Madame Meriem AISSAOUI** pour son aide, et sa disponibilité, et monsieur **Adlane BENYAMINA***

*Pour sa patience et son aide indispensable à la réalisation de ce projet.*

*Nos vifs remerciements s'adressent aux membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail :*

*Mme **HAMICHE Sonia**, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'avoir acceptée de présider le jury d'examination.*

*Mme **ESSEID Chahrazed**, pour l'honneur qu'ils nous ont accordé en examinant ce modeste travail.*

*Nous exprimons notre très grande considération, et notre profond respect à tous les enseignants de la promotion master, 2021-2023 qu'ils trouvent ici le témoignage de notre sincère reconnaissance, pour leurs apports très constructifs.*

*À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé mon chemin et  
d'aboutir au moment que j'ai l'attendu*

*Je dédie mon modeste travail:*

*À mes très chers parents : Maman et Papa qui ont fait le  
possible pour moi, surtout Maman qui a été toujours avec moi,  
qui a souffrant durant toutes mes années d'études, franchement  
je ne peux pas exprimer autour de tous ce qui m'ont fait dès  
mon enfance jusqu'à ce moment.*

*À me chère sœur*

*Et*

*À mes chers frères*

*À toute ma famille qui a toujours participé à me donner du  
courage et de la volonté.*

*À tous les enseignants qui m'ont enseigné*

*À tous mes amies et collègues et tous les assistants qui me  
connaissent.*



**Soumia**

# *Dédicace*

*Je dédie le fruit de ce modeste travail comme un geste de gratitude :*

*A mes chers parents, ma chère mère **DEKIK Malika**, mon cher père **Kamel**,*

*Ma source de force et de lumière, quoi que je fasse, je ne saurai point vous remercier  
comme il se doit.*

*Votre affection me couvre, votre bienveillance me guide, votre présence à mes côtés m'a  
toujours permet d'affronter toute obstacle, que Dieu vous procure bonne santé et longue  
vie.*

*A ma 1ere source de motivation, mes six sœurs ; **Keltoum, Aicha, Fatma Zohra,  
Soumia, Adjia , et Asmaa**; qui m'ont toujours encouragé et soutenu .*

*A mes neveux **Ishak, Mahmoud, et Ahmed***

*Et*

*Mes nièces **Douaa, Amani, Rahma, et Hanaa.***

*A mes meilleures cousines **Aicha et Amina.***

*A toutes mes amies, tout particulièrement : **Sarah et Asma***

*Et mes collègues.*

*Sans oublier mon binôme **Soumia** et mon encadrant **Mr Mezrag A**, et tous les  
professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement  
supérieure.*

*Meriem*



## Résumé

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Dans cette recherche, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique des métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, et les tanins des parties aériennes d'une espèce du genre *Plocama* de la région de Hammam Melouane, qui appartient à la famille des Rubiaceae.

Nous avons effectué dans le cadre de notre mémoire, le screening phytochimique des parties aériennes de la plante et aussi pour les extraits de la plante qui sont obtenue par macération à froid, le dosage des métabolites secondaires, les polyphénols, les flavonoïdes, et les tanins condensés dans les extraits, évaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes différentes, le piégeage de radical libre DPPH, et le test de blanchissement de beta carotène, l'étude du pouvoir inhibiteur de la corrosion pour les deux extraits chloroformique et éthanolique et on finit par l'activité antimicrobienne sur ces extraits et sur l'extrait hexanolique.

Les tests de screening phytochimique des parties aériennes de la plante montre la présence des tannins catechiques, les tannins galliques et les quinones. En parallèle les tests de caractérisation des extraits enregistrent la présence des tannins, les terpènes et les stérols.

L'analyse des taux de polyphénols, de flavonoïdes et de tannins condensés révèle la richesse de l'extrait éthanolique par rapport à l'extrait chloroformique en ce qui concerne ces métabolites secondaires. Les valeurs obtenues sont les suivantes :  $80,78 \pm 3,012$  µg EAG/mg d'extrait pour les polyphénols,  $67,26 \pm 2,11$  µg EQ/mg d'extrait pour les flavonoïdes, et  $279$  µg EC/mg d'extrait pour les tannins condensés.

En ce qui concerne l'activité antioxydante, l'extrait éthanolique présente de bons résultats par rapport à l'extrait chloroformique. Il a montré une  $IC_{50}$  de  $1,65$  mg/ml dans la méthode de DPPH et un pourcentage de  $36,6\%$  dans le test de blanchiment du  $\beta$ -carotène. Enfin, en ce qui concerne l'activité antimicrobienne, celle-ci a été testée sur cinq souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella Aboney*, ainsi que sur deux champignons : *Aspergillus Brasiliensi* et *Candidat Albicans*. L'extrait chloroformique a montré un effet sur ces souches et champignons, à l'exception du *Candidat Albicans*.

**Mot clés** : La famille Rubiaceae, Screening phytochimique, macération à froid, polyphénols, flavonoïdes, Tannins, activité antioxydante, la corrosion.

## ملخص

لطالما احتلت النباتات الطبية مكانة مهمة في الترسانة العلاجية للبشرية. اهتمنا في هذا البحث بالدراسة الكيميائية النباتية للمستقبلات الثانوية مثل المركبات الفينولية والفلافونويد والعفص للأجزاء الهوائية لنوع من جنس *Plocama* من منطقة حمام ملوان التي تنتمي إلى عائلة *Rubiaceae*. أجرينا كجزء من أطروحتنا، الفحص الكيميائي النباتي للأجزاء الهوائية من النباتات، وأيضًا لمستخلصات النبات التي يتم الحصول عليها عن طريق النقع البارد، وجرعة المستقبلات الثانوية، والبوليفينول، والفلافونويد، والعفص المكثف في المستخلصات، تقييم نشاط مضادات الأكسدة بطريقتين مختلفتين، محاصرة الجذور الحرة DPPH، واختبار التبييض بيتا كاروتين، ودراسة القدرة المثبطة للتآكل لمستخلصي الكلوروفورم والإيثانول، وننتهي بالنشاط المضاد للميكروبات على هذه المستخلصات وعلى مستخلص هيكسانول. تُظهر اختبارات الفحص الكيميائي النباتي للأجزاء الهوائية من النبات وجود التانينات الكاتيونية والعفص الغالي والكينون. في موازاة ذلك، تسجل اختبارات توصيف المستخلصات وجود التانينات والتربينات والستيرويدات. يوضح تحديد مستويات البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف ثراء المستخلص الإيثانولي مقارنة بمستخلص الكلوروفورم لهذه المستقبلات الثانوية بالقيم التالية على التوالي  $3.012 \pm 80.78$  ميكروغرام / EAG / ملغ من المستخلص،  $2.11 \pm 67.26$  ميكروغرام / EQ / ملغ للمستخلص، و279 ميكروغرام / EC / ملغ. بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة، أظهر المستخلص الإيثانولي نتيجة جيدة مقارنة بمستخلص الكلوروفورم، بتركيز 1.65 mg/ml في طريقة DPPH و36.6% في اختبار بيتا كاروتين التبييض. وأخيرًا وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات فقد تم اختباره على 4 سلالات بكتيرية *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* و *Salmonella Aboney* واثنتين من الفطريات *Aspergillus Brasiliensi* و *Candidate Albicans*، فقط المستخلص هيكسانول الذي له تأثير على هذه السلالات ما عدا المرشحين البيض.

الكلمات المفتاحية: عائلة *Rubiaceae*، الفرز الكيميائي النباتي، النقع البارد، البوليفينول، الفلافونويد، التانينات، النشاط المضاد للأكسدة، التآكل.

## Abstract

Medicinal plants have always had an important place in the therapeutic arsenal of humanity. In this research, we were interested in the phytochemical study of secondary metabolites such as phenolic compounds, flavonoids, and tannins of the aerial parts of a species of the genus *Plocama* from the region of Hammam Melouane, which belongs to the family of the Rubiaceae. We carried out as part of our thesis, the phytochemical screening of the aerial parts of the plants and also for the extracts of the plant which are obtained by cold maceration, the dosage of secondary metabolites, polyphenols, flavonoids, and tannins condensed in the extracts, evaluation of the antioxidant activity by two different methods, DPPH free radical trapping, and the beta carotene bleaching test, the study of the corrosion inhibiting power for the two chloroform and ethanolic extracts and we ends with the antimicrobial activity on these extracts and on the hexanolic extract. The phytochemical screening tests of the aerial parts of the plant show the presence of catechic tannins, gallic tannins and quinones. In parallel, the characterization tests of the extracts record the presence of tannins, terpenes and sterols. The determination of the levels of polyphenols, flavonoids, and condensed tannins shows the richness of the ethanolic extract compared to the chloroform extract of these secondary metabolites with the following values respectively  $80.78 \pm 3.012$   $\mu\text{g}$  EAG/mg of extract,  $67.26 \pm 2.11$   $\mu\text{g}$  EQ/mg of extract, and  $279$   $\mu\text{g}$  EC/mg E. For the antioxidant activity the ethanolic extract shows a good result compared to the chloroform extract, a  $\text{IC}_{50}$  of  $1.65$  mg/ml in the DPPH method and  $36.6\%$  in the test of beta carotene bleaching. And finally, and concerning the antimicrobial activity it was tested on 5 bacterial strains *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Aboney* and two fungi *Aspergillus Brasiliensi*, *Candidate Albicans*, only the hexanolic extract which has an effect on these strains and fungi except on the *Candidate Albicans*.

**Keywords:** The Rubiaceae family, phytochemical screening, cold maceration, polyphenols, flavonoids, tannins, antioxidant activity, corrosion.

## TABLE DES MATIERES

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

### Chapitre I : Recherche bibliographique

**No table of contents entries found.**Références bibliographiques

### Chapitre II : Partie expérimentale

II/Introduction.....	20
II.1/Matériel végét.....	20
II.2/ Présentation de la région d'étude.....	20
II.3/Procédé d'extraction.....	21
II.3.1/Préparation des extraits secs.....	22
II.3.2/ Détermination de rendement.....	23
II.4/Analyse qualitative.....	23
II.4.1/Le screening phytochimique.....	23
II.4.1.1/screening phytochimique de la partie aérienne de la plante.....	23
II.4.1.1.1/Préparation de l'extrait hydroéthanolique (HA).....	23
II.4.1.1.2/Préparation de l'extrait chloroformique (C).....	24
II.4.1.1.3/ Préparation de l'extrait éthérique (E).....	24
II.4.1.1.4/Préparation de l'extrait sulfurique (S).....	25
II.4.1.1.5/Différentes classes recherchées.....	25
II.4.1.1.5.a/Tannins.....	25
II.4.1.1.5.b/ Quinones.....	25
II.4.1.1.5.c/Anthraquinones.....	25
II.4.1.2/Screening phytochimique des extraits.....	25
II.4.1.2.1/Détection des tannins.....	25
II.4.1.2.2/Détection des terpènes.....	25
II.4.1.2.3/Détection des Saponosides (test de la mousse).....	25
II.4.1.2.4/Détection des stérols (test de Salkowski).....	25
II.4.1.2.5/Détection des anthraquinones.....	26
II.4.1.2.6/Détection des sucres : (test de Fehling).....	26
II.5/Analyse quantitative.....	26

II.5.1/Dosage des polyphénols totaux.....	26
II.5.2/Dosage des Flavonoïdes totaux.....	27
II.5.3/Dosage des tanins condensés.....	28
II.6/Etude de l'activité anti oxydante.....	29
II.6.1/Méthode de DPPH (piégeage des radicaux libres).....	29
II.6.2/Test de blanchissement du $\beta$ -carotène.....	30
II.7/Etude de l'effet inhibiteur de corrosion des extraits.....	30
II.7.1 Etude gravimétrique.....	30
II.7.1.1/ Matériel utilisé.....	31
II.7.1.2/Préparation des surfaces des métaux.....	31
II.7.3/Solution corrosive.....	31
II.7.3.1/Préparation des solutions diluées.....	32
II.8/Activité antibactérienne et antifongique <i>in vitro</i> .....	33
II.8.1/Matériel bactérienne.....	33
II.8.2/Matériels fongiques.....	33
II.8.3/ Préparation des extraits.....	34
II.8.4/ Tests microbiologique : Méthode de diffusion en milieu gélosé.....	34
II.8.5/Expression des résultats.....	35
II.9/Conclusion.....	35
Références bibliographiques	

## Chapitre III : Résultats et discussions

III/ Introduction.....	36
III.1/Le Rendement des extractions .....	36
III.2/Analyse qualitative.....	36
III.2.1/Screening chimique de la plante fraiche .....	36
III.2.1.a/Les tanins.....	38
III.2.1.a.1/ Les tanins catechiques .....	38
III.2.1.a.2/Les tanins galliques .....	38
III.2.1.b/Les quinones .....	39
III.2.2/ Caractérisation de l'extrait.....	39
III.2.2.1/Les terpènes.....	40
III.2.2.2/Les tanins .....	40
III.3/Analyse quantitative.....	40
III.3.1/ Dosage des polyphénols.....	40

III.3.2/Dosage des Flavonoïdes.....	41
III.3.3/Dosage des tannins.....	43
III.4/ Détermination du potentiel antioxydant des extraits.....	45
III.4.1/ Piégeage du radical libre DPPH.....	45
III.4.3/ Test de blanchissement de $\beta$ -carotène.....	47
III.5/Activité antimicrobienne.....	49
III.5.1/ Méthode de diffusion en milieu solide.....	49
III.5.2/Les résultats de l'activité antibactérienne : .....	50
III.5.3/Les résultats de l'activité antifongique .....	52
III.6/ Etude du pouvoir inhibiteur des extraits d'une espèce du genre <i>Plocama</i> sur la corrosion de l'acier X48 en milieu HCl 1M .....	54
III.6.1/Extrait chloroformique.....	54
III.6.2/Extrait Éthanolique .....	56
III/7Conclusion.....	58
Références bibliographiques	
Conclusion générale.....	59

## Liste des Figures

N°	Titre	Page
<b>Figure I.1</b>	Structure botanique de la famille de Rubiaceae	4
<b>Figure I.2</b>	Quelques espèces de genre Plocama.	6
<b>Figure I.3</b>	Différentes classes de flavonoïdes	12
<b>Figure I.4</b>	Mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification enzymatique	14
<b>Figure I.5</b>	Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH	15
<b>Figure I.6</b>	Structure de la molécule du $\beta$ -carotène	16
<b>Figure I.7</b>	Schéma descriptif de l'adsorption physique	18
<b>Figure II.1</b>	Carte géographique de la région d'étude Hammam Melouane wilaya de Blida	20
<b>Figure II.2</b>	Macération	21
<b>Figure II.3</b>	Evaporation	21
<b>Figure II.4</b>	Macération des extraits de screening	22
<b>Figure II.5</b>	Extraits après filtration	24
<b>Figure II.6</b>	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	24
<b>Figure II.7</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine	27
<b>Figure II.8</b>	Courbe d'étalonnage de la catéchine	28
<b>Figure II.9</b>	Diapositif expérimental d'une polisseuse	29
<b>Figure II.10</b>	La pièce XC48 avant et après le polissage	31
<b>Figure II.11</b>	Les pièces métalliques sont émergées dans les solutions diluées	31
<b>Figure II.12</b>	Préparation des milieux de culture	32
<b>Figure II.13</b>	Préparation des milieux de culture	35
<b>Figure III. 1</b>	Histogramme représentatif des teneurs en polyphénols des extraits	41
<b>Figure III.2</b>	Histogramme représentatif des teneurs en Flavonoïdes des extraits	42
<b>Figure III.3</b>	Histogramme représentatif des teneurs en tannins des extraits	44
<b>Figure III. 4</b>	Taux des polyphénols dans les extraits du genre Plocama	45
<b>Figure III.5</b>	Pourcentage d'inhibition % du radical libre DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique	45
<b>Figure III.6</b>	Pourcentage d'inhibition % du radical libre DPPH en fonction de concentration des deux extraits	46

<b>Figure III.7</b>	Histogramme représentatif des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% de DPPH des différents extraits et de référence du test DPPH en (mg/ml).	46
<b>Figure III.8</b>	Courbe d'absorbance de bêta-carotène en fonction du temps en présence des extraits et de référence, témoin négatif.	48
<b>Figure III.9</b>	Pourcentage d'activité antioxydant des extraits et de BHT de test $\beta$ -carotène	49
<b>Figure III. 10</b>	Résultats des test d'activité antibactérienne pour la concentration de 50 (mg/ml)	50
<b>Figure III.11</b>	Résultats des tests d'activité antibactérienne pour la concentration de	52
<b>Figure III.12</b>	Résultats des tests d'activité antifongique pour la concentration de 20 (mg/ml)	53
<b>Figure III.13</b>	Variation de la vitesse de la corrosion d'extrait chloroformique en fonction de temps avec inhibiteur dans HCL 1M	56
<b>Figure III.14</b>	Variation de l'efficacité inhibitrice d'extrait chloroformique en fonction de temps avec inhibiteur dans HCL 1M	56
<b>Figure III.15</b>	Variation de la vitesse de la corrosion d'extrait éthanolique en fonction de temps avec inhibiteur dans HCL 1M	58
<b>Figure III.16</b>	Variation de l'efficacité inhibitrice d'extrait éthanolique en fonction de temps avec inhibiteur dans HCL 1M	58

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau (I.1)	La composition chimique de la famille Rubiaceae	5
Tableau (I.2)	Classification de genre Plocama	7
Tableau (I.3)	Classification des polyphénols	9
Tableau (I.4)	Activités biologiques des composés phénoliques	10
Tableau (II.1)	Composition chimique de métal étudié	31
Tableau (II.2)	Souches bactériennes testés et leurs provenances	33
Tableau (II.3)	Les champignons testés et leurs provenances	34
Tableau (II.4)	Tableau (II.4) : signification des résultats des zones d'inhibition	35
Tableau (III.1)	Rendement d'extraction	36
Tableau (III.2)	Résultats de screening de la partie aérienne de la plante	37
Tableau (III.3)	Résultats de screening des extraits	39-40
Tableau (III.4)	Résultats de dosage des polyphénols totaux	40
Tableau (III.5)	Résultats de dosage des flavonoïdes totaux	42
Tableau (III.6)	Résultats de dosage des Tannins condensée	43
Tableau (III.)	Zones d'inhibition des extraits par une concentration de 50 mg/ml et de témoin (+) Et témoin (-) dans cinq souche bactérienne	50
Tableau (III.8)	Zones d'inhibition des extraits par une concentration de 20 mg/ml et de témoin (+) et témoin (-) dans cinq souche bactérienne	51
Tableau (III.9)	Zones d'inhibition des extraits par une concentration de 20 mg/ml et de témoin (+) Et témoin (-) dans deux champignons	53
Tableau (III.10)	Vitesses de corrosion et effecacités inhibitrices pour différents concentration de l'extrait chloroformique pour la corrosion de l'acier X480 dans HCL pendant 72h.	55
Tableau (III.11)	Tableau (III.11) : Vitesses de corrosion et effecacités inhibitrices pour différents concentration de l'extrait éthanolique pour la corrosion de l'acier X480 dans HCL pendant 72h.	57

## Liste des Abréviations

AA% : Activité antioxydante %

Abs : Absorbance

ADN : Acide désoxyribonucléique

APG : ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP

ATTC: American Type Culture Collection

BHT: Hydroxytoluènebutylé

CI<sub>50</sub>: concentration inhibitrice 50

CMI : concentrations minimales inhibitrices

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DPPH : Diphényle picrylhydrazyle

EAG : Equivalent acide Gallique

EQ : Equivalent Quercétine

EC : Equivalent catéchine

GPx : Glutathion peroxydase

NACE : National Association of Corrosion Engineers

ROS : Reactive oxygen species

SOD : Superoxyde dismutase

## Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments. Jusqu'au début du XX<sup>ème</sup> siècle, presque tous les médicaments étaient d'origine végétale.

De nos jours, les plantes restent une source d'inspiration pour des nouveaux composés médicamenteux, selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) en 2008, plus de 80% de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs besoins de soins de santé primaires.

Les plantes médicinales sont des plantes naturelles que nous pouvons rencontrer tous les jours. Il a été découvert et utilisé depuis les XX<sup>èmes</sup> siècles, en raison de ses propriétés thérapeutiques. Il est considéré comme la matière première pour la fabrication de médicaments, ainsi que l'article principal de la Pharmacopée. On peut bénéficier de ses propriétés thérapeutiques grâce à l'une de ses parties (feuille, bulbe, racine, graines, fruits, fleurs). Ces plantes sont instinctivement sélectionnées pour détecter si elles conviennent à un usage médicinal ou si elles sont toxiques[1].

La forme et la composition chimique de chaque plante varient en fonction du sol et de ses conditions de croissance représentées en humidité, température et ensoleillement, nous pouvons donc obtenir deux plantes du même type, mais elles sont différentes en composition chimique, en raison du lieu et des conditions de croissances [2].

Les plantes sont capables de synthétiser plusieurs substances actives qui exercent des activités biologiques sur les cellules humaines et animales, ce dernier est représenté par des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides, acides nucléiques) et des métabolites secondaires, plus de 12000 métabolites secondaires ont été identifiés. Ce qui ne représente que 10% du total des métabolites végétaux. Il est utilisé aussi dans l'industrie alimentaire, la cosmétique et la pharmacie, Parmi ces composés on retrouve (les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes)[3].

En tenant compte du positionnement et des enjeux de la recherche mentionnés précédemment, ainsi que du besoin d'identifier de nouvelles molécules à activités biologiques, notre problématique de recherche a été formulée. Par conséquent, nous avons décidé d'explorer la biodiversité végétale algérienne afin de découvrir de nouvelles molécules ayant un fort potentiel. Il convient de noter que seule une petite partie des espèces végétales a été

étudiée du point de vue chimique et pharmacologique, ce qui signifie que les chances de trouver de nouveaux métabolites actifs ou de découvrir de nouvelles activités pour des composés connus sont élevées.

Notre travail s'inscrit dans cette perspective et se concentre sur l'étude d'une espèce du genre *Plocama*, en mettant l'accent sur son endémisme et ses caractéristiques médicinales. Cette espèce appartient à la famille des Rubiacées.

La présentation de ce mémoire se divise en trois chapitres :

Le premier chapitre consiste en une synthèse bibliographique portant sur la famille des Rubiacées, avec une attention particulière sur le genre *Plocama* et ses métabolites secondaires.

Le deuxième chapitre présente les travaux expérimentaux réalisés, Il comprend le criblage phytochimique, les techniques d'extraction, les dosages des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que la mise en évidence de l'activité antioxydante des extraits par le biais de deux méthodes (test de DPPH, et le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène). De plus, l'activité antimicrobienne des extraits est évaluée, et une étude sur l'activité anticorrosion est également réalisée.

Le dernier chapitre rassemble les différentes observations et la discussion des résultats obtenus au cours de notre étude.

Enfin, nous concluons notre étude en résumant les principales découvertes et en mettant en évidence les implications potentielles de nos résultats.

# **Chapitre I : Revue bibliographique**

# Chapitre I: Revues bibliographiques

---

## I/Introduction

L'estimation du nombre total d'espèces de plantes supérieures varie entre 250 000 et 500 000, avec une estimation générale autour de 300 000 espèces. Parmi ces espèces, environ 1% ont été utilisées comme nourriture, tandis que près de 10 000 ont été documentées pour leurs utilisations médicinales. La flore algérienne compte environ 3 000 espèces appartenant à différentes familles botaniques, dont 15% sont endémiques. Cependant, la connaissance phytochimique et pharmacologique de la flore algérienne reste limitée. Dans la suite de notre discussion, nous nous concentrerons sur la famille des Rubiaceae et le genre *Plocama*.

## I.1/La famille Rubiaceae

### I.1.1/Définition

C'est une famille de plantes qui a été décrite par un botaniste français Antoine-Laurent de Jussieu en 1789. Le mot Rubiaceae vient de mot « Rubia », qui est le nom d'un type de genre et qui signifie « blonde » ancien nom latin de la plante de ruber, « rouge ».

Rubiaceae contient environ 13500 espèces différentes de plantes à fleurs (le caféier, la chicorée et la garance) réparties en 611 genres, qui sont des plantes faciles à identifier en raison de leurs feuilles opposées simples et complètes, et aussi sont des plantes bisexuées, la couleur de leurs fruits est souvent rouge, et parfois elle peut être orange, jaune ou noire. L'un de ses avantages les plus importants est qu'il a une valeur économique importante [4].

### I.1.2/Les Caractéristiques Botanique

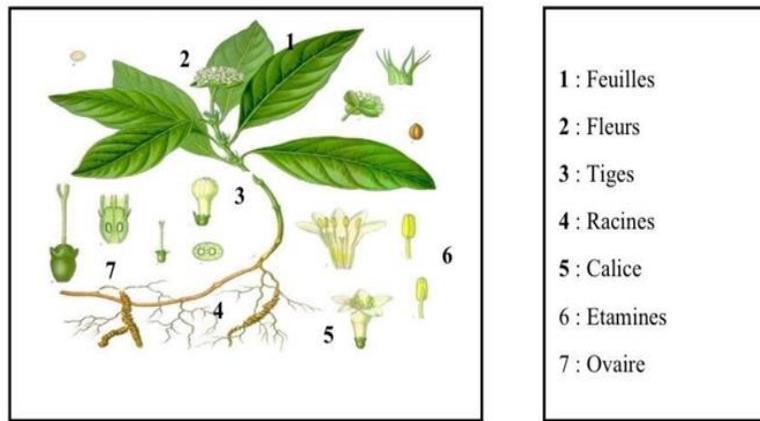
Les rubiacées sont morphologiquement très différentes, on y retrouve des plantes herbacées annuelles comme les limnosipanea et certains grands arbres de la canopée comme Chimarrhi [5]

La plante est composée de :

- ❖ Feuilles : généralement sont opposées ou verticillées simples entières et stipules.
- ❖ Tige : est quadrangulaire
- ❖ Fleurs : sont en panicule, en cyme ou en capitule. L'inflorescence est généralement assez dense [6].
- ❖ Fruit : produisent une baie mais beaucoup de Rubiaceae donnent des fruits secs.
- ❖ Graines : sont ailées ou non
- ❖ Racines : présentent des renflements avec des réseaux de cavités où se trouvent des fourmis [7]

La figure ci-dessous montre la structure botanique de la famille de Rubiaceae.

# Chapitre I: Revues bibliographiques



**Figure (I.1):** Structure botanique de la famille de Rubiaceae (*Cephaelisipécacuanha*) [8]

## I.1.3/Classification et taxonomie

En classification classique de Cronquist (1981), les Rubiaceae et les Theligonaceae constituent l'ordre des Rubiales [9].

	Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta	
Division	Magnoliophyta	
Classe	Magnoliopsida	
Sous-classe	Asteridae	
Ordre	Rubiales	

Selon la classification phylogénétique APG (1998), et les versions ultérieures, les Rubiacées appartiennent à l'ordre des Gentianales dans le groupe Euasterid 1 [10].

	Clade	Angiospermes
	Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Astériidées	
Clade	Lamiidées	
Ordre	Gentianales	
Famille	Rubiaceae	

- ❖ La Famille Rubiaceae se divise en trois sous-familles :
- ❖ Les Cinchonoideae (*Gardenia, Cinchonia...*)
- ❖ Les Coffeoidae ou Guettardoideae (*Coffea, Urugoga, Richardsonia, Psychotria...*)
- ❖ Les Rubioideae (*Galium, Rubia...*) [11]

## I.1.4/Distribution

Les plantes appartenant à la famille des Rubiacées sont réparties dans les régions tropicales et subtropicales, quelques-unes dans les régions tempérées et même dans l'Arctique et l'Antarctique [12].

# Chapitre I: Revues bibliographiques

## I.1.5/Composition Chimique

Tableau (I.1) : La composition chimique de la famille Rubiaceae[13-15].

Composés chimique	Exemple
Composés phénolique totaux	Acide gallique Acide caféique Acide hydrox benzoïque
Tannins	Les tannins catechiques
Terpénoïdes	Triterpènes Stérols
Hétérosides	L'aséruloside Le monotropéine L'antraquinone Les saponosoides
Huiles essentielles	$\alpha$ -terpinéol, linalol, limonène

### I.1.6.L'intérêt économique

Les Rubiacées jouit d'une grande importance économique, notamment en ce qui concerne le café. « Coféier robusta » et « Coféier d'Arabie » sont parmi l'un des marchés les plus importants et les plus rentables du monde des plantes [16]. Il y a aussi le complément alimentaire « Morinda citrifolia », qui a une grande importance et consommation aux États-Unis. États sous forme de jus de fruit, de jus séché ou d'extrait sec [17].

### I.1.7/L'intérêt biologique

L'utilisation de plusieurs plantes est motivée par leurs propriétés médicinales. Certaines espèces végétales, telles que *Cinchoneae*, *Ladenberrgia* et *Remijia*, sont riches en alcaloïdes. Ces plantes sont utilisées à la fois comme stimulants et antipyrétiques. Elles sont originaires d'Amérique du Sud tropicale et peuvent également être trouvées en Indonésie, en Inde et en Afrique.

Les Coffeoïdeae, d'origine africaine, comprennent des variétés telles que le *Coffea arabica* d'Abyssinie, le *C. liberica* et le *C. robusta* de la Côte-d'Ivoire. Ces plantes contiennent des quantités importantes de caféine et sont cultivées dans les tropiques, en Amérique du Sud, au Brésil et en Amérique centrale.

La plante Ipéca (*Carapichea ipecacuanha*) contient trois types d'alcaloïdes différents dans ses racines, à savoir l'émétine, la psychotrine et la céphéline. Cela confère à la plante diverses caractéristiques, notamment ses propriétés vomitives et antidysentériques.

Les espèces de Cinchona (*Cinchona officinalis*) et d'ipéca (*Carapichea ipecacuanha*) contiennent la molécule de quinine, qui est le premier médicament antipaludique. Dans le sud du désert du

# Chapitre I: Revues bibliographiques

Sahara, plusieurs autres espèces de la famille des Rubiacées sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter des affections telles que l'hépatite, l'eczéma, l'hypertension artérielle et le diabète. Le genre *Uncaria* utilise également ces plantes dans le traitement des ulcères, de la fièvre, des maux de tête et des infections fongiques [18].

## I.2/Le genre *Plocama*

Le genre *Plocama* appartient à la famille des Rubiaceae, c'est un genre de plantes à fleurs qui a été découvert en 1789 par le botaniste d'origine écossaise « William Aiton », c'est un genre monospécifique contient uniquement *P.Pondula* . En 2007, certaines plantes de la famille des Rubiaceae ont été ajoutées au genre *Plocama* et qui appartenait à ses genres voisins (*Gaillonia*, *Putoria*, *Jaubertia*, *Crocylis*...)il contient donc maintenant 34 espèces[19,20].



Figure (I.2): Quelques espèces de genre *Plocama*

### I.2.1/Les caractéristiques botaniques

Les plantes de ce genre sont des herbes ou des arbustes. Ils ont généralement une odeur désagréable lorsqu'ils sont écrasés. Les feuilles sont disposées de manières opposées. La corolle est en forme d'entonnoir avec une base tubulaire courte à longue. Le fruit est soit une drupe, soit un corps qui se divise en deux parties à maturité [21].

### I.2.2/Classification / taxonomie

Le genre *Plocama* est classé selon cette classification [22]:

Tableau (I.2): Classification de genre *Plocama*

<b>Règne</b>	<b>plantae</b>
<b>Sous-règne</b>	Viridiplantae
<b>Infra-règne</b>	Streptophyta
<b>Super-embranchement</b>	Embryophyta
<b>Embranchement</b>	Tracheophytes
<b>Sous-embranchement</b>	Spermatophytes
<b>Ordre</b>	Gentianales

# Chapitre I: Revues bibliographiques

---

<b>Famille</b>	Rubiaceae
<b>Sous-famille</b>	Rubiodeae
<b>Genre</b>	<i>Plocama</i>

## I.2.3/Distribution et habitat

Le genre *Plocama* est distribué des îles Canaries au nord-ouest de l'Inde. Mais il y a aussi des plantes de ce genre trouvées dans d'autres régions comme : *Plocama Reboudiana* c'est une plante des rocailles du Sahara et des pentes arides des Atlas. *Plocama Calabrica* est connu d'Espagne, d'Italie (incl. Sicile), de Malte, du Monténégro, de Bosnie-Herzégovine, de Croatie, D'Albanie, de Grèce (incl. Crète), Chypre, Turquie, Liban, Irak, Syrie, Maroc, Algérie, Tunisie et Libye. L'absence de l'espèce en France et en Egypte est notable. Cet arbuste nain forme souvent des tapis dans les crevasses rocheuses et se trouve le plus souvent dans les régions côtières, principalement à des altitudes intermédiaires mais s'étendant jusqu'à 2300 m, de préférence sur du calcaire, mais parfois aussi sur du gypse ou de la lave [23-25].

## I.2.4/Composition chimique et toxicité

Appartenant à la famille des Rubiacées, *Plocama* est un genre de plantes à fleurs. La poudre séchée de racine de *Plocama* peut être utilisée pour extraire des produits naturels à l'aide d'une gamme de solvants, notamment le n-hexane, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, l'eau et l'éthanol. Le criblage des composés phytochimiques indique que l'extrait de chloroforme contient des alcaloïdes, tandis que les anthocyanes sont présents dans l'extrait d'éthanol. L'extrait aqueux contient des terpénoïdes, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des composés phénoliques[26].

## I.2.5/Activités biologiques

L'étude des espèces *P. pendula* et *P. calabrica* du genre *Plocama* a contribué à la découverte de diverses activités biologiques de ce genre. Des études ont révélé leur activité antibactérienne, antifongique, antidépressive et antioxydante. Ces découvertes ont été rapportées dans des références scientifiques, notamment les sources [27-29]. Ces résultats mettent en évidence le potentiel pharmacologique et thérapeutique des espèces du genre *Plocama* et justifient davantage la poursuite de la recherche dans ce domaine.

## I.3/Dosage des métabolites

### I.3.1/Polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires du règne végétal. Ces composés ont un ou plusieurs groupes hydroxyle directement attachés au cycle aromatique du phénol [30]. La

## Chapitre I: Revues bibliographiques

---

plupart des composés phénoliques se trouvent dans les feuilles, les parties ligneuses des plantes telles que l'écorce, les tiges, les tissus floraux.

La voie la plus importante dans la biosynthèse des composés phénoliques chez les plantes est la voie du shikimate, qui produit l'acide cinnamique précurseur, qui est ensuite utilisé pour synthétiser les principaux composés phénoliques.

Les polyphénols peuvent être classés de différentes manières. Ont classé les polyphénols selon le nombre de cycles phénoliques présents et les composants structurels qui maintiennent ces cycles ensemble, divisant les molécules en acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes et lignanes[31].

### I.3.1.1/Classes des polyphénols

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones[32].

**Tableau (I.3) : Classification des polyphénols**

<i>Nombre de Carbone</i>	<i>Squelette</i>	<i>Classification</i>	<i>Exemple</i>
7	$C_6 - C_1$	Acides phénols	Acide gallique
8	$C_6 - C_2$	Acétophenones	Gallacetophenone
8	$C_6 - C_2$	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique
9	$C_6 - C_3$	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique
9	$C_6 - C_3$	Coumarines	Esculitine
10	$C_6 - C_4$	Naphtoquinones	Juglone
13	$C_6 - C_1 - C_6$	Xanthonés	Mangiférine
14	$C_6 - C_2 - C_6$	Stilbènes	Resveratrol
15	$C_6 - C_3 - C_6$	Flavonoïdes	Naringénine

### I.3.1.2/Propriétés biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont dotés de certaines activités résumées dans le tableau suivant [33]:

## Chapitre I: Revues bibliographiques

Polyphénols	Activités
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes

Tableau (I.4) : Activités biologiques des composés phénoliques

### I.3.1.3/ Dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu

Le principe de la méthode repose sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange d'acides jaunes phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ )) en milieu alcalin. Elle a constaté que ses propriétés colorimétriques étaient altérées en présence de polyphénols. Il réagit avec la fonction  $-OH$  des phénols [34]. Cela conduit à la formation d'un nouveau complexe d'oxyde de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène bleu ( $Mo_8O_{23}$ ), qui absorbe à 760 nm.

# Chapitre I: Revues bibliographiques

## I.3.2/Flavonoïdes

A ce jour, il existe plus de 4500 représentants différents des flavonoïdes, constituant une large classe de produits naturels phénoliques. Le terme flavonoïdes est couramment utilisé pour décrire un grand nombre de produits naturels avec un squelette carboné C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, en particulier la fonctionnalité phénylbenzopyrane. Ces groupes partagent souvent un précurseur commun, la chalcone, et sont donc biogénétiquement et structurellement apparentés [35]. Ces métabolites représentent la majorité de la pigmentation retrouvée dans la plupart des tissus végétaux, et les formes basiques de ces composés fonctionnent d'abord comme molécules de signalisation avant d'évoluer dans d'autres processus comme la protection des plantes contre les rayonnements UV-B, la croissance, le développement et la défense [36].

### I.3.2.1/Les classes des Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont composés de divers métabolites végétaux, notamment les chalcones, les oléonones, les flavanones, les isoflavones, les flavonoïdes, les flavonols, les leucocyanidines, les catéchines et les anthocyanines.

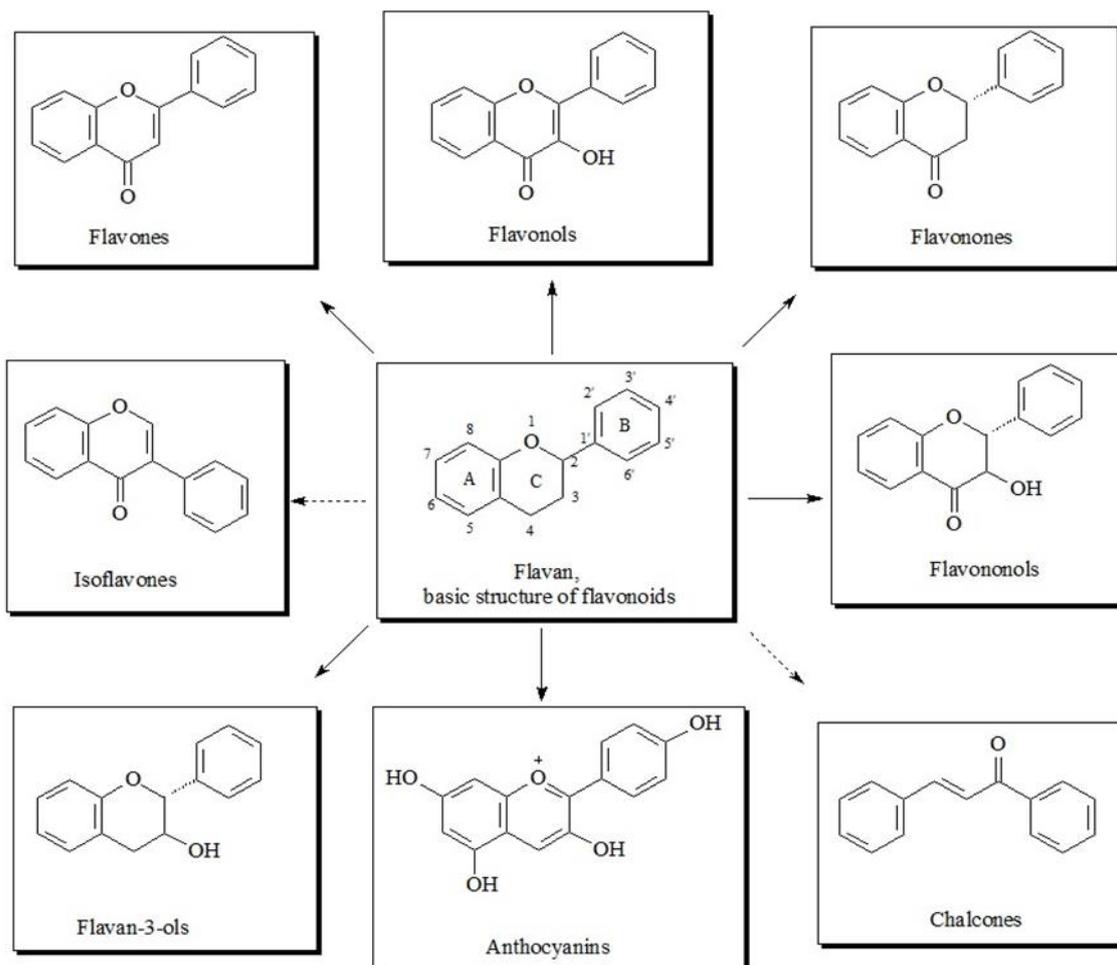


Figure (I.3): Différentes classes de flavonoïdes

# Chapitre I: Revues bibliographiques

---

## **I.3.2.2/Distribution et localisation**

Les flavonoïdes sont largement présents dans les légumes à feuilles (salade, choux, épinards, etc.) et dans la peau des fruits. Récemment, de nombreuses études ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonols, flavonoïdes et flavanones [37].

## **I.3.2.3/Dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium**

Le principe de cette méthode colorimétrique est qu'en présence de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), les flavonoïdes peuvent former des complexes acides jaune clairs stables avec les groupements cétone  $C_4$  et les groupements hydroxyle  $C_3$  ou  $C_5$  des flavonoïdes et des flavonols [38]. Le complexe jaunâtre formé absorbe la lumière visible à 510 nm et est mesuré par spectrophotométrie à 430 nm.

## **I.3.3/Tannins**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures diverses, appréciées dans le monde végétal, où on les retrouve dans divers organes. Les tanins tirent leur nom de leur propriété de provoquer la précipitation des protéines.

Les tanins ont des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes et antimutagènes.

Les tanins aident également à arrêter les saignements et à combattre les infections [39].

Les tanins sont principalement divisés en deux catégories [40] :

-Tanins concentrés non hydrolysables ou tanins catéchiques.

-Tanins hydrolysables.

### **I.3.3.1/Classification des tanins**

#### **I.3.3.1.1/Tanins galliques**

Les tanins hydrolysables sont créés par estérification d'un monosaccharide avec de l'acide gallique ou l'un de ses dérivés. Au sein de ce groupe de tanins, il y a ceux qui résultent de la combinaison de l'acide gallique, comme les acides ellagique et chébulique [41].

#### **I.3.3.1.2/Tanins condensés**

Sont un type de tanin très concentré et compact. Les molécules non hydrolysables appelées tanins condensés sont constituées de polymères flavanoliques composés principalement d'unités flavan-3-ol telles que l'épicatéchine et la catéchine, avec une structure ressemblant à des flavonoïdes mais dépourvues de composants sucrés [42].

### **I.3.3.2/Localisation et distribution**

Les tanins se trouvent couramment dans tout le règne végétal, certaines familles, telles que les conifères, les fagacées et les rosacées, en ayant une abondance notable. On peut les trouver dans une multitude d'organes, y compris, mais sans s'y limiter, l'écorce, les feuilles, les fruits et les racines [43].

# Chapitre I: Revues bibliographiques

---

## I.3.3.3/Dosage des tanins par la méthode de vanilline

Nous avons utilisé la méthode à la vanilline en utilisant HCl. La méthode repose sur la réaction de la vanilline avec les groupes flavonoïdes terminaux de TC et la formation de complexes rouges, ce qui s'explique par les propriétés des tanins convertis en anthocyanes rouges par réaction avec la

Vanilline. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode à la vanilline décrite par [44].

## I.4/Activité biologique

### I.4.1/Activité antioxydante

#### I.4.1.1/Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui transportent des électrons non appariés. Cette propriété rend ces éléments très réactifs puisque les électrons ont tendance à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules [45].

Les radicaux libres sont générés à partir de diverses sources : pollution, cigarettes, rayonnement UV, métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), inflammation et métaux toxiques [46].

#### I.4.1.2/Le stress oxydatif

Est défini comme un déséquilibre dans l'équilibre entre le système de défense antioxydant et les pro-oxydants [47]. Qui peut survenir en raison de la surproduction d'oxydants ou de la diminution des défenses antioxydantes [48].

#### I.4.1.3/Conséquences du stress oxydatif

Le stress oxydatif provoque des dommages, entraînant divers changements biochimiques intracellulaires tels que l'oxydation de l'ADN, des protéines et la peroxydation des lipides [49]. Le stress oxydatif est impliqué dans de nombreuses pathologies telles que le cancer, le vieillissement accéléré. C'est l'un des facteurs de développement de maladies telles que la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires [50].

#### I.4.1.4/Les Antioxydants

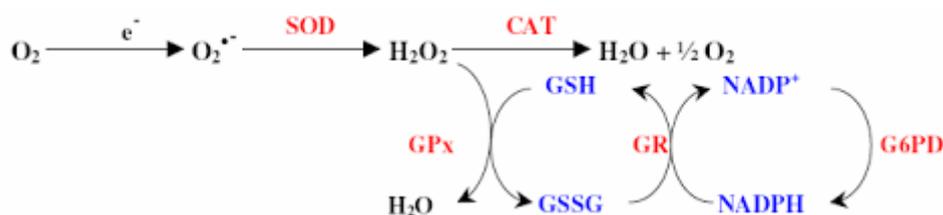
Les antioxydants sont des substances qui neutralisent ou réduisent les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et aident à maintenir les concentrations de ROS non cytotoxiques au niveau cellulaire. Au niveau cellulaire, on distingue deux lignes de défense aux fonctions inégales pour détoxifier la cellule [51].

##### I.4.1.4.1/Les antioxydants enzymatiques

Le système enzymatique du corps humain est principalement composé de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) comme indiqué dans

# Chapitre I: Revues bibliographiques

l'étude [52]. Les enzymes travaillent ensemble pour contrer la cascade radicalaire. À l'anion superoxyde  $O_2^-$  et  $H_2O_2$ . Ce processus aboutit finalement à la production d'oxygène moléculaire et d'eau, comme le montre la figure I.4.



**Figure (I.4) :** Mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification enzymatique [53]

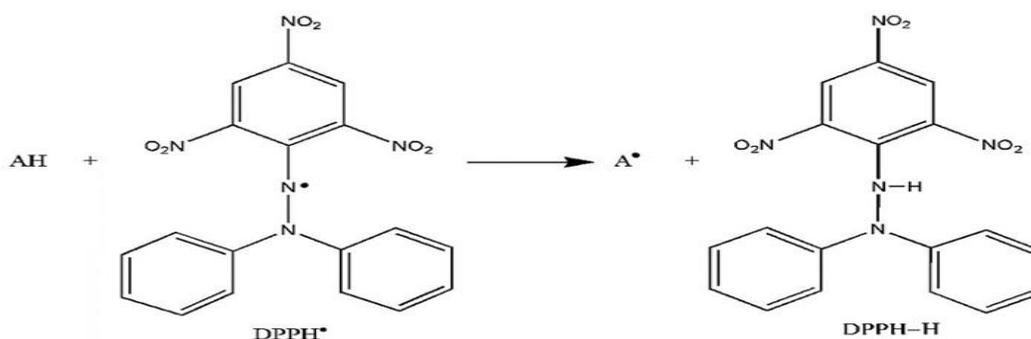
## I.4.1.4.2/Les Antioxydants non enzymatiques

La majorité des antioxydants non enzymatiques ne sont pas produits naturellement par l'organisme et doivent être obtenus par apport alimentaire. Cette classification des antioxydants comprend les oligo-éléments, ainsi que les vitamines E et C et les polyphénols [54].

## I.4.1.5/Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

### I.4.1.5.1/Piégeage du radical libre DPPH

Le radical DPPH, également connu sous le nom de 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle, est considéré comme stable en raison de la dispersion de l'électron dans toute la molécule. Ce phénomène donne au radical une teinte violette foncé caractéristique, avec une bande d'absorption comprise entre 512 et 517 nanomètres. Si un composé antioxydant donne un atome d'hydrogène au DPPH dans une solution, le radical sera réduit en diphénylpicryl hydrazine, entraînant une perte à la fois de ses propriétés radicalaires et de sa couleur violette. Le changement de couleur du DPPH du



violet au jaune est un indicateur de la réaction.

**Figure (I.5) :** Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH

La technique DPPH est un test couramment utilisé en raison de sa rapidité, de sa simplicité et de son prix abordable, ainsi que de sa capacité à fournir une mesure préliminaire de l'efficacité des

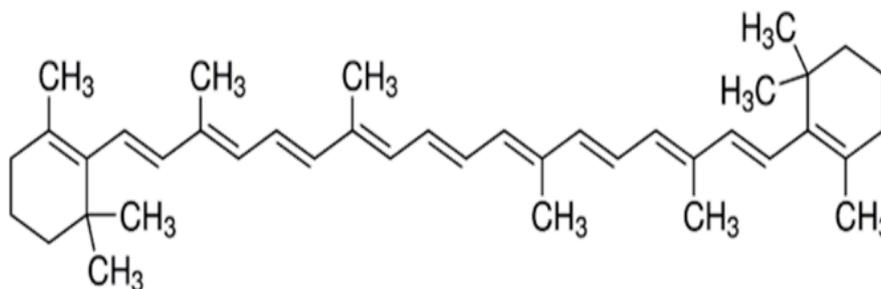
## Chapitre I: Revues bibliographiques

---

composés antioxydants. Ce test peut également quantifier l'activité antioxydant dans des systèmes complexes pour des échantillons liquides et solides. Cependant, les résultats du test DPPH sont fortement influencés par le milieu de réaction, car l'absorption de DPPH suite à l'interaction avec l'échantillon analysé peut être réduite par une gamme d'autres facteurs tels que le pH, l'oxygène, la lumière et le type de solvant[55].

### I.4.1.5.2/Test de blanchissement du $\beta$ -carotène

Cette méthode particulière d'évaluation rapide des antioxydants est basée sur le principe que l'acide linoléique d'acide gras insaturé dans un système d'émulsion aqueuse produit des radicaux libres. Ces radicaux provoquent l'oxydation de la molécule de  $\beta$ -carotène hautement insaturée (comme le montre la Figure I.9), entraînant la disparition de sa couleur rouge. Cette décoloration est suivie à travers un spectrophotomètre réglé sur 470 nm [56].



**Figure (I.6):** Structure de la molécule du  $\beta$ -carotène

Cette technique particulière est non seulement rapide mais également simple, et elle présente l'avantage supplémentaire d'être compatible avec la chromatographie sur couche mince. Les résultats obtenus par cette méthode sont très satisfaisants [57].

### I.4.2/Activité anticorrosion

Le terme "corrosion" est une définition simple de la réaction entre un métal et son environnement environnant. Le principal facteur qui détermine la longévité d'une structure métallique est le taux de corrosion. L'acceptabilité d'un taux de corrosion particulier est déterminée par divers facteurs, notamment l'épaisseur du métal, l'usage prévu et la durée de vie de la structure métallique, ainsi que les effets des produits de corrosion sur l'environnement [58]. La corrosion dans le domaine de l'ingénierie de la corrosion est définie comme la réponse d'un métal ou d'un matériau structurel avec son environnement, entraînant la dégradation des propriétés du matériau. Cette définition est présentée dans la source [59].

# Chapitre I: Revues bibliographiques

---

## I.4.2.1/Types de corrosion

La corrosion peut se développer suivant différents processus induisant plusieurs types de corrosion

### I.4.2.1.1/Corrosion chimique

C'est une réaction chimique pure entre une surface métallique et un liquide ou un liquide gaz. Il implique généralement la conversion des métaux en oxydes, formant ainsi Couche de surface. La corrosion est dite sèche lorsque les réactifs sont gazeux [60].

### I.4.2.1.2/Corrosion biochimique

La biocorrosion correspond à une attaque bactérienne sur les matériaux Métaux, en particulier dans les pipelines enterrés et les réservoirs de stockage. Ceci est dû au fait Principalement exposition aux sécrétions de micro-organismes présents dans l'environnement avec du métal [61].

### I.4.2.1.3/Corrosion électrochimique

C'est une réaction électrochimique entre la surface d'un matériau et un liquide électrolyte. Elle s'accompagne de la formation d'amas, qui sont des lieux de circulation courant [62].

## I.4.2.2/L'inhibiteur

Le terme « inhiber » trouve ses racines dans le mot latin « Inhibere », qui se traduit par « arrêté pour se retenir ». Le terme "inhibition" est utilisé dans les domaines de la chimie et de la corrosion depuis l'année 1907.

Selon la National Association of Corrosion Engineers (NACE), un inhibiteur est une substance chimique qui, lorsqu'elle est ajoutée à faible concentration dans un environnement corrosif, retarde la corrosion [63].

Un inhibiteur est efficace s'il satisfait un certain nombre de critères [60]:

- ❖ Réduit la vitesse de corrosion des métaux sans affecter le milieu ni les propriétés physico-chimiques du métal.
- ❖ Stable aux températures de fonctionnement et en présence d'autres composants dans l'environnement, en particulier les agents oxydants.
- ❖ Soluble et dispersible dans le milieu.
- ❖ Efficace à faible concentration.
- ❖ Répond aux normes non toxiques.
- ❖ Bon marché.

### I.4.2.3/Les inhibiteurs verts de corrosion

De nombreux chercheurs se sont penchés sur la possibilité d'utiliser des substances à base de plantes comme agents qui inhibent la corrosion des métaux lorsqu'ils sont exposés à divers environnements hostiles. Les plantes sont un groupe complexe de substances avec une variété de

## Chapitre I: Revues bibliographiques

caractéristiques physiques, chimiques et biologiques. Les extraits dérivés de ces composés sont fréquemment utilisés dans l'industrie médicale, en particulier dans la création de produits pharmaceutiques. L'un des aspects les plus attrayants de ces extraits est leur nature respectueuse de l'environnement, ainsi que leur non-toxicité, leur prix abordable et leur biodégradabilité, comme en témoigne une étude récente [64].

Les composés organiques présents dans les extraits de plantes ont diverses propriétés qui les rendent très efficaces pour créer des films protecteurs sur les surfaces métalliques par adsorption. Il existe des paramètres structurels spécifiques qui peuvent avoir un impact sur l'efficacité des inhibiteurs organiques. Ces paramètres comprennent la structure géométrique de la molécule, la longueur de sa chaîne carbonée, le type de liaison présente, la capacité de la molécule à former une couche continue ou une liaison chimique sur la surface métallique, le potentiel de réaction et de création d'un complexe avec des atomes métalliques ou des ions, et la force de la liaison formée avec la surface métallique [65].

À l'heure actuelle, il existe plus de 4 000 articles relatifs à l'utilisation d'extraits naturels de plantes provenant de diverses parties de plantes (telles que les tiges et les feuilles) comme méthode de prévention de la corrosion dans divers environnements hostiles qui affectent les métaux et les alliages.

### I.4.2.4/Adsorption physique

La charge du métal est déterminée par la position de son potentiel de corrosion par rapport à son potentiel de charge nulle. Si le potentiel de corrosion du métal a une valeur inférieure à son potentiel de charge nulle, l'adsorption des cations a lieu, alors que les anions sont adsorbés lorsque le potentiel de corrosion du métal est dans la région de potentiel positif concernant son potentiel de charge nulle [65].

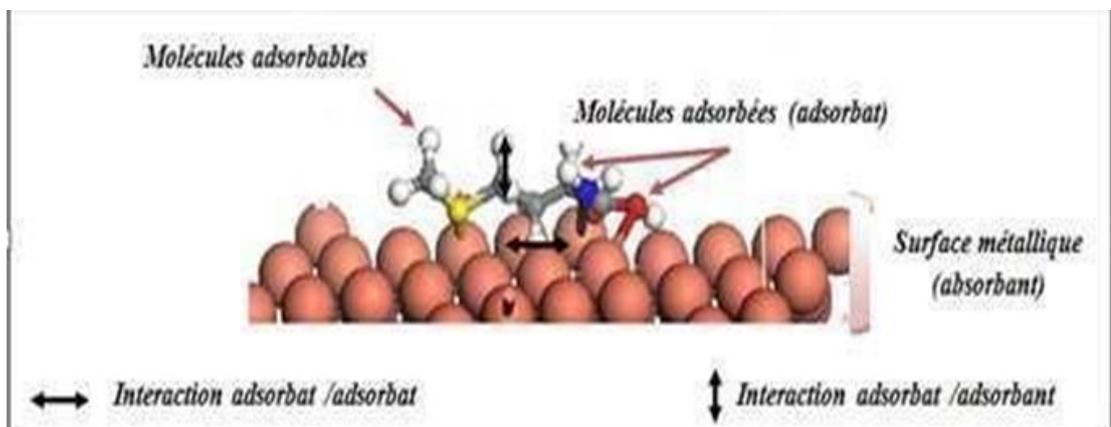


Figure (I.7) : Schéma descriptif de l'adsorption physique[66]

# Chapitre I: Revues bibliographiques

---

## **I.4.2.5/Adsorption chimique (Chimisorption)**

Cette adsorption s'accompagne d'une profonde modification de la répartition des charges électroniques des molécules adsorbées, les forces mises en jeu sont de même type que celles qui sont impliquées, lors de la formation des liaisons chimiques. Il est évident que le transfert des électrons sera favorisé par la présence de liaisons multiples, d'hétéroatomes et par la présence de substituant doués d'effet donneur [65].

## **I.4.3/Activité antibactériennes**

### **I.4.3.1/Généralités**

Les antibiotiques sont la pierre angulaire du traitement des infections bactériennes. Cependant, l'utilisation généralisée et parfois inappropriée de ces médicaments peut entraîner l'émergence de souches multirésistantes. Cela souligne l'importance de concentrer les efforts de recherche sur l'identification de nouvelles voies qui peuvent servir d'inspiration pour le développement de médecines alternatives à base de plantes.

### **I.4.3.2/Les principales substances antibactériennes**

#### **I.4.3.2.1/Les antibiotiques**

Un antibiotique est une substance qui est de nature naturelle, semi-synthétique ou synthétique et qui possède des propriétés antibactériennes. Il a la capacité de cibler et de perturber les mécanismes vitaux des germes, entraînant l'inhibition de leur croissance ou leur élimination spécifique, même lorsqu'il est administré à faible dose [67].

#### **I.4.3.2.2/Les composés phénoliques**

Les micro-organismes sont connus pour être vulnérables aux polyphénols, en particulier les flavonoïdes et les tanins, en raison de leurs propriétés toxiques. Cette toxicité est liée à l'inhibition des enzymes hydrolytiques ou à d'autres méthodes de neutralisation des adhésines microbiennes, du transport et des protéines de l'enveloppe cellulaire [68]. Les polyphénols ont d'autres moyens d'exercer leurs effets, notamment le confinement du substrat de croissance essentiel pour les micro-organismes et l'entrave au métabolisme microbien [69].

#### **I.4.3.3. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne des matériaux peut être démontrée in vitro par un nombre de technologie standard dans des milieux solides et liquidités [70].

##### **I.4.3.3.1. Aromatogramme**

La technique utilisée pour l'aromagramme est dérivée de l'antibiogramme, méthode employée en bactériologie médicale. Cette méthode est également connue sous le nom de méthode de diffusion ou du disque en milieu gélosé. [71].

## Chapitre I: Revues bibliographiques

---

Pour effectuer la technique, il faut utiliser des disques de papier qui ont été trempés dans les substances à examiner. Ces disques doivent ensuite être placés sur une surface de gélose qui a été uniformément inoculée avec une suspension des bactéries observées. Une fois la période d'incubation terminée, des colonies apparaissent à la surface de la gélose. Il y aura une zone d'inhibition autour du disque, son diamètre indiquant la sensibilité de la souche à l'antibiotique. Un plus grand diamètre suggère une plus grande sensibilité, tandis qu'un plus petit indique la résistance de la bactérie, selon les études de [72,73].

### **I.4.3.3.2/Méthode de dilution**

Pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices, la méthode de dilution est couramment employée. Les extraits sont introduits dans le milieu de culture dans des volumes précis pour atteindre des concentrations spécifiques. Ensuite, des micro-organismes sont introduits dans le milieu et celui-ci est incubé. La CMI est déterminée après la période d'incubation. Le degré d'inhibition peut être déterminé visuellement ou à l'aide d'un spectrophotomètre, le niveau de turbidité dans le milieu indiquant le degré d'inhibition [74]. Ce processus a été décrit pour la première fois par [75].

### **I.4.4/Activité antifongique**

Les substances qui ont la capacité d'éliminer sélectivement les champignons sont appelées antifongiques, et elles sont d'origine naturelle, et elles peuvent rencontrer de nombreux champignons en mycologie. Ces traitements peuvent être administrés soit de manière localisée, soit de manière généralisée [76].

### **I.4.4/Relation entre l'activité antifongique et les métabolites secondaires**

Différents types de plantes sont connus depuis longtemps pour leur efficacité agents antibactériens. Composition riche en plantes aromatiques et médicinales (MAP) des ressources naturelles d'une telle importance que leur valorisation nécessite une parfaite connaissance de leurs propriétés. De se démarquer. Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence de divers agents bioactifs appartenant à différentes classes chimiques [77]. Les plantes produisent des composés secondaires (terpènes, composés soufrés, alcools etc.), sont généralement considérés comme des défenses des plantes contre divers organismes dévalorisés. Ces composés secondaires sont appelés métabolites secondaires. Les extraits de plantes apparaissent comme l'une des alternatives c'est le plus efficace contre les maladies des plantes et le moins nocif pour le corps humain et l'environnement [78]. Alors que les métabolites secondaires ont un effet antifongique.

# Chapitre I: Revues bibliographiques

---

## I.5/Conclusion

Les résultats de notre recherche bibliographique sur la famille Rubiaceae ont éveillé notre intérêt en raison de la richesse de la plante que nous étudions, et cela nous a motivés à approfondir nos recherches sur l'étude phytochimique et biologique d'une espèce du genre *Plocama*, qui est un membre significatif de cette vaste famille.

## References bibliographiques

1. Biljana Bauer Petrovska. (January 2012). National Institutes of Health. Historical review of medicinal plants' usage. Doi : 10.4103/0973-7847.95849 *Traité pratique de la phytothérapie*. Dr Jean-Michel Moral. Editions Grancher.
2. [https://fr.wikipedia.org/wiki/Plante\\_m%C3%A9dicinale](https://fr.wikipedia.org/wiki/Plante_m%C3%A9dicinale)
3. Bahorun. T, Gressier. B, Trotin. F, Brunet. C, Dine. T, Luyckx. M, Vasseur. J, Cazin. M, Cazin. JC, and Pinkas. M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*. 46: 1086-1089.
4. <https://www.conservation-nature.fr/plantes/rubiaceae/>
5. Dupont J, Guinard H. (2007). *botanique systématique moléculaires*. Université de Metz. [14] ^ (éme) édition Masson. P323.
6. Backlund M, Oxelman B, et Bremer B. (2000). Phylogenetic relationships within gentianales based on ndhF and rbcL sequences, with particular reference to the loganiaceae *Jornal Bot*, 87, 1029-1043.
7. Nicolas H. (2016). Les rubiales, *Encyclopédie Universalis*.
8. Kungel. Tekniska högskolan. (1987). Production of Emetine from *Cephaelis Ipecacuanha* in Nicaragua.
9. Arthur Cronquist. (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, New York, Columbia University Press.
10. Angiosperm Phylogeny Group. (1998). « An ordinal classification for the families of flowering plants », *Annals of the Missouri Botanical Garden, Jardin botanique du Missouri*, vol. 85, no 4.
- 11.12. [https://www.plantes-botanique.org/famille\\_rubiaceae](https://www.plantes-botanique.org/famille_rubiaceae)
13. Goetz T, Le Jeune B. (2011). *Phytothérapie. Asperula odorata L. (partie aérienne de Aspérule)* *Food Chemistry* 29:185-188.
14. Eva B, Nikolett S, Rita C. (2016). Antioxydant potentiel, tannin and polyphenol contents of seed and pericarp of three *Coffea* species. *Asian Pacific Journal of Tropical Medecine*. 72:109-306.
15. Cheng, S. Y, Wen Z.h, Wang S.K, Chiou, S.F, Hsu, C.H, Dai, C.F, and Duh, C.Y. (2009). Anti-inflammatory cembranolides from the soft coral *Lobophytum durum* *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10.1016, 04-053.
16. Jean et Pierre. (2010). *Caffé, le thé, chocolat, bienfait pour le cerveau et pour le corps*. Edition Odil Jacob. P234.

17. CCE. (2003). Commission des communautés européennes. Décision de la commission du 5 juin 2003 relative à l'autorisation de mise sur le marché de "jus de noni" (jus du fruit de *Morinda citrifolia* L.) en tant que nouvel ingrédient alimentaire, en application du règlement (CE) n°258/97. Du parlement européen et du conseil (2003/426/CE). Journal officiel n° L 144.
18. [https://www.plante-botanique.org/famille\\_rubiaceae](https://www.plante-botanique.org/famille_rubiaceae).
19. World Checklist of Rubiaceae. Retrieved 17 January 2017.
20. [http://www.planetefleurs.fr/Systematique/Rubiaceae/Plocama\\_pendula.htm](http://www.planetefleurs.fr/Systematique/Rubiaceae/Plocama_pendula.htm).
21. Jump up to a b Backlund M., Bremer, Bamp; Thulin, M. (2007). Paraphyly of Paederieae. Recognition of Putorieae and expansion of Plocama (Rubiaceae-Rubioideae). *Taxon*, 56(2), 315-328.
22. <https://en.wikipedia.org/wiki/Category:Plocama>.
23. <https://commons.m.wikimedia.org/wiki/Category:Plocama>.
24. World Checklist of Rubiaceae. Retrieved 17 January 2017.
25. M. Backlund & Coss. & Durieu. *Plocama reboudiana* Ehrend. & Schönb.-Tem, Coss. & Durieu. (2005). *Jaubertia reboudiana* Coss. & Durieu. (1855). *Gaillonia reboudiana*.
26. Göktürk R.S, Düşen O., Kaya E., Gürcan B., Sarpkaya U. (2019). A new variety of *Plocama Calabrica* (Rubiaceae) from Denizli (Turkey) confirmed by morphological and molecular ISSR markers. *Acta Bot Croat*, DOI: 10.2478/botcro-0016.
27. Backlund& Thulin.( May 2007). Revision of Mediterranean *Plocama* *TAXON* 56 (2). P516– 520.
28. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199606\)10:4%3C364::AID-PTR846%3E3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199606)10:4%3C364::AID-PTR846%3E3.0.CO;2-B)
29. Backlund& Thulin.( May 2007). Revision of Mediterranean *Plocama* *TAXON* 56 (2). P516– 520.
30. Suthagar P., Roziahaman M., Amin M., Zeyad D. (2012). Antioxidant and antiangiogenic Activities of the essential oils of *Myristica fragrans* and *Morinda citrifolia*.
- Vela M. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing Phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97 : 654–660.

31. Wilfred V, Ralph N. (2016). "Phenolic Compounds In : Natural Products Chemistry Sources Separations and Structures." London , New York . CRC Press Taylor & Francis Group. P65.
32. Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C and Jimenez L. (2004). "Polyphenols: food sources and bioavailability." *The American Journal of Clinical Nutrition*, V. 79, 727–747.
33. Alan C Michael N. (2006). Clifford Hiroshi Ashihara .Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.
34. Bahorun T. (1997). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle Ed AMAS. P12-17.
35. Catalano L, Franco I, De Nobili, M & Eita L. (1999). "Polyphenols in olive mill wastewaters and their depuration plant effluents : a comparison of the Folin-Ciocalteu and HPLC methods." *Agrochimica*, V. 43, 193-205.
36. Grotewold E. (2016). "Chemistry of Flavonoids : The Science Of Flavonoids", New York. Springer-Verlag. P1-2.
37. Abdelghafour M. (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat Biophysique, Université de Limoges. P42.
38. Chang C.H, Chang CC, Chang M, Yang, M & Wen H. (2002). " Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods". *Journal of food and drug analysis*, V. 10, 178-182.
39. Medfouni R et Hafsi N.(2017-2018). Contribution à l’étude phytochimique et les activités biologiques d’une plante médicinale *Syzygium aromaticum*.Mémoire master. P22.
40. Biaye Mamadou. (21/12/2002). Action pharmacologique des tanins.Thèse de docteur en pharmacie, Université de Dakar. P58.
41. Hakim A. (2012). Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du sud du maroc : *Asteriscus graveolens* subsp. *Olorus* (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav.) DC. P39.
42. Bensalah F. Contribution à l’étude phytochimiques et l’effet hémolytique de l’extrait brut hydroalcoolique de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* L. Mémoire master. P52.
43. Khanbabae K, Ree T.R. (2001). Tannins:Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. 18: 641-649. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
44. R.Julkunen-Titto, "Phenolic constituents in the leaves of northem wiliows methods forthe analysis of certain phenolics" *Journal of Agricultural and Food chemistry*,1985, Vol.
45. Dacosta Y. (2003) .Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, p317.

46. Favier A. (2006). Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy SAGE Journal*, Vol 64, p390-396.
47. Meda N. T. R., Bangou M. J., Bakasso S., Millogo-Rasolodimby J., Nacoulma O.G. (2013). Antioxidant activity of phenolic and flavonoid fractions of *Cleome gynandra* and *Maerua angolensis* of Burkina Faso. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3(2) : 36-42.
48. Ece A. Gurkan F. Celik F, Boşnak M. Yel S. Balik H. Erel O. (2007). Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clinical Biochemistry Journal*, Vol 40(9-10), p634-639.
49. Cook J.W., Taylor L. M., Orloff S. L., Landry G. J., Moneta G.L., Porter J. M. (2003). Homocysteine and arterial disease. Experimental mechanisms. *Vascular Pharmacology*. 38: 293-300.
50. Favier A. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* 55, 9-16.
51. Favier A. (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*. P108-117.
52. Avissar N., Whitin J.C., Allen P.Z. (1989). Plasma sélénium-dépendent glutathionperoxydase. *Biol. Chem.* 2: 15850-15855.
53. Kebili Z. (2016). Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits d'*Ephedra alata* de la région d'Ouargla. Mémoire de Magister, Université Kasdi Merbah, Ouargla, p19.
54. Kanoun K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus Communis L. (Rayhane)* de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, p118.
55. Xie J, Schaich KM. (2014). " Re-evaluation of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Free Radical (DPPH) Assay for Antioxidant Activity ". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. V. 62, 4251-4260.
56. Mueller L, Boehm V. (2014). " Antioxidant activity of  $\beta$ -carotene compounds in different in vitro assays ", *Molecules*, V. 16, 1055-1069.
57. Laguerre M, López-Giraldo L.J, Lecomte J, Pina M, Villeneuve P. (2007). " Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante" , *Fondamental, OCL*, V.14, 278-292.
58. L.L. Sheir, PhD, CChem, FRIC, FIM, FICorrT, FIMF, OBE R.A. Jarman, MSc, PhD, CEng, FIM, MIEE, FWI G.T. Burstein, MSc, PhD, "MA CORROSION" ,"Corrosion Control Edited" V.2,20.

- 59.L.L. Shreir, R.A. Jarman, G.T. Burstein.(1994). "Corrosion MetaEnvironment" V.I,39.
60. Boucherit, L., (2012) "effet anti corrosif d'une diamine aromatique et de sa base de schiff sur l'acier X52 en milieu HCl 1M", magister, université ferhat abbas setif.
- 61.62. OULABBAS, A., (2019) "Effets des inhibiteurs verts sur la corrosion des aciers ordinaires dans deux milieux acides", Doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba.
63. SRISUWAN, N., (2008) "Propriétés inhibitrices d'un mélange d'amines grasses et de sébaçate de sodium vis-à-vis de la corrosion d'un acier au carbone", doctorat, Ecole Doctorale Sciences de la matière.
64. Liao, L.L., et al., (2017) "Longan seed and peel as environmentally friendly corrosion inhibitor for mild steel in acid solution: experimental and theoretical studies". *Journal of colloid and interface science*,. 499: p. 110-119.
- 65.KHADRAOUI, A.,(2014) extraction et pouvoir bioinhibiteur de substances naturelles d'origine végétale vis a vis de la corrosion acide de l'acier,doctorat,université de saad dahleb blida.
- 66.Ben Hmamou, D., Salghi, R., Bazzi, Lh., Hammouti, B., Al-Deyab, S.S., Bammou, L.
67. Okusa Ndjolo P. (2012). Etude phytochimique et activité antimicrobienne directe et indirecte de *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). Thèse de doctorat." Sciences Pharmaceutiques". Université Libre De Bruxelles, P. 26.
68. Cowan M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4):564-570.
69. Mila I., Scalbert A. (1994).Tannin antimicrobial properties through iron deprivation a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance* 381(2):749-755.
- 70.El kalamouni C., Marzouk B., Menut C. (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits des plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorats, Université de Toulouse.
- 71.Biyiti L.F., Meko'o D.J.L., Tamzc V., Amvam Z.P.H. (2004).Recherche de l'Activité .
- 72.Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. *Traditional pharmacology and medicine in Africa*. 13: 11-20.
- 73.Pibiri M. (2006).Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, école polytechnique fédérale de Lausanne. 161p.
- 74.Hellal Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus: Application sur la sardine (*Sardina*

pilchardus). Mémoire de magister." Biochimie appliquée et Biotechnologies". Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p. 16-17. Dilution

75. Eloff J.N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. 64(8): 711-3.

76. O'fel. A.,(1982). Parasitologie, Mycologie : Maladies parasitaires et fongiques, Association des professeurs de parasitologie. Paris : E.Crouan et Roques, p.p. 349. Antifongique

77. Ouraïni. D., Agoumi. A., Ismaïli-Alaoui. M., Alaoui. K., Cherrah. Y., Amrani. M. et Belabbas. M. A.,( 2005). Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. Phytothérapie, 3, 4, p.p. 147-157.

78. Hanafey. F., Sabry. A., 2013. In vitro Antifungal Activity of Three Geophytic plant Extracts against Three Post-harvest Pathogenic Fungi, 16, 23, p.p. 1698-1705.

# **Chapitre II : Matériels & méthodes**

## II/Introduction

Cette partie de l'étude porte sur l'analyse de la composition chimique des parties aériennes d'une espèce du genre *Plocama*. Elle comprend les étapes suivantes : le screening phytochimique, le dosage des tanins condensés, le dosage des flavonoïdes, ainsi que l'évaluation de l'activité oxydante et antibactérienne des différents extraits de cette plante.

Toutes ces analyses ont été réalisées dans les laboratoires pédagogiques du département de chimie de la faculté des sciences de l'université Saad Dahleb-Blida, ainsi que dans le laboratoire d'hygiène-Faroudja-Blida.

### II.1/Matériel végétale

Le matériel végétal qui a été utilisé au cours de notre étude est la partie aérienne d'une espèce du genre *Plocama* récolté en mois de juin 2022 dans la région de "Hammam Melouane" au sud de la wilaya de "Blida". Après la récolte les parties utilisées de la plante (feuilles et tiges) ont été séchées dans un endroit bien aéré à une température ambiante et à l'obscurité pour éviter toute modification ou dégradation des constituants présents

Après le séchage, ces parties ont été découpés en petits morceaux, puis soumises à des extractions afin d'extraire les différentes classes de composés chimiques contenues dans notre plante pour des tests phytochimique et biologiques.

### II.2/ Présentation de la région d'étude

Hammam Melouane est un village situé à latitude 36.48° Nord et 3.05°Est. Au sud de la wilaya de Blida, à environ 30 km à l'est de Blida et à environ 40 km au sud d'Alger et à environ 47 km au nord-est de Médéa. La région a un climat méditerranéen avec été chaud (Csa) [1].

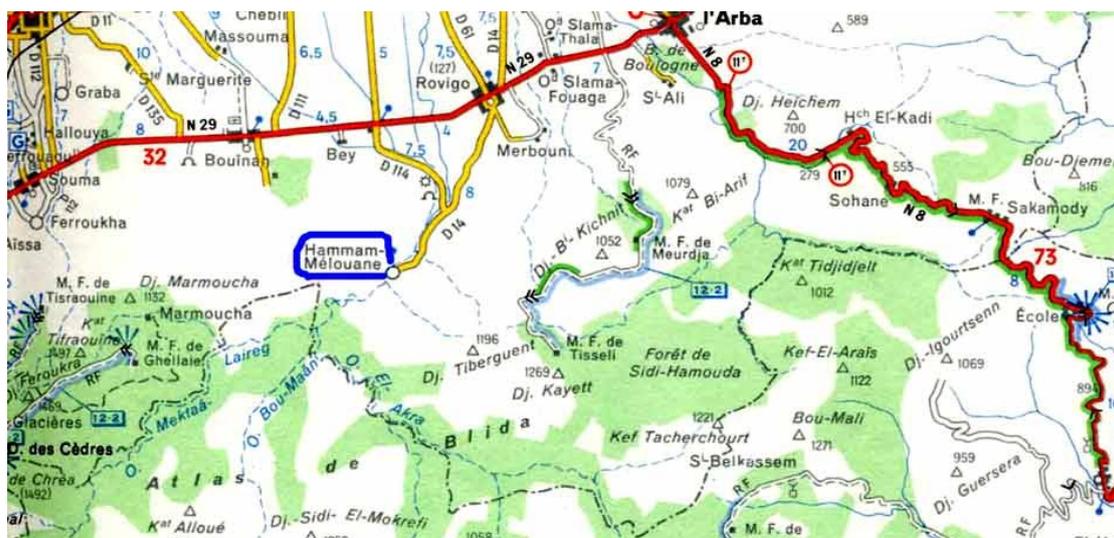


Figure (II.1) : carte géographique de la région d'étude Hammam Melouane wilaya de Blida

### II.3/Procédé d'extraction

#### II.3.1/Préparation des extraits secs

Les extraits végétaux étudiés sont obtenus par une méthode d'extraction appelée macération à froid. Cette méthode solide-liquide consiste à mettre en contact une matière végétale solide avec un solvant d'extraction liquide. Dans ce cas, 200 g de plante séchée et broyée ont été pesés et mélangés avec trois solvants choisis par ordre de polarité pour l'extraction : 1000 ml de cyclohexane, 1000 ml de chloroforme et 1000 ml d'éthanol. Chaque macération dure 24 heures (Figure II.2). Les macérats obtenus sont ensuite filtrés à l'aide de coton, puis ils sont soumis à une évaporation sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (Figure II.3).



**Figure (II.2) : Macération**    **Figure (II.3) : Evaporation**

Le protocole d'extraction est résumé dans l'organigramme (Figure II.4) montrant les différentes étapes du processus d'extraction.

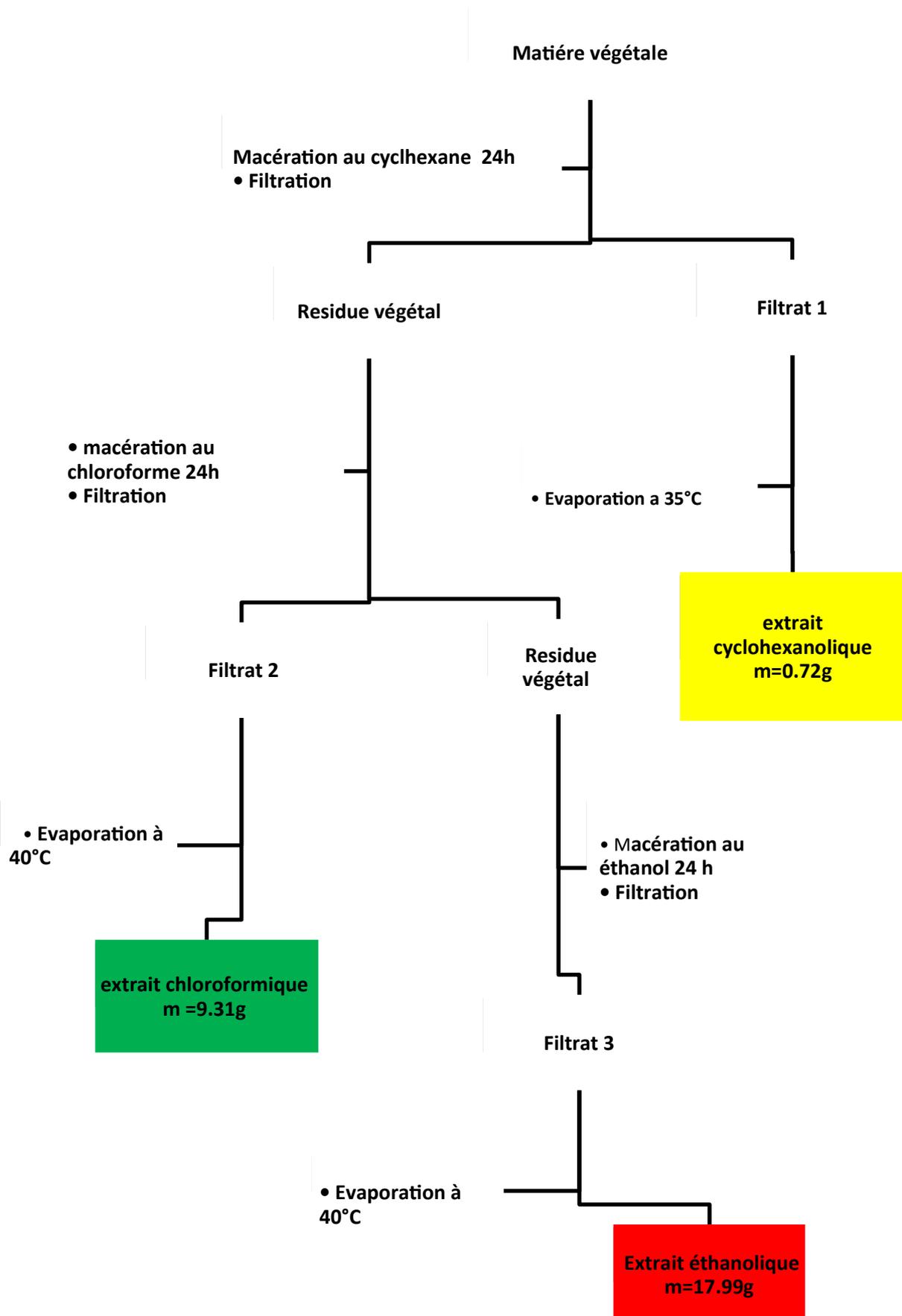


Figure II.4 : protocole d'extraction de l'espèce étudiée

### II.3.2/ Détermination de rendement

Le rendement en extrait sec est défini comme le rapport de la masse d'extrait sec récupéré sur la masse de matière végétale traitée en grammes. Il est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{M}{M_0} \times 100$$

Avec :

$R$  : le rendement exprimé en pourcentage (%)

$M$  : la masse de l'extrait sec (en gramme)

$M_0$  : la masse de matière végétale initiale utilisé pour l'extraction (en gramme)

### II.4/Analyse qualitative

#### II.4.1/Le screening phytochimique

Le screening phytochimique ou criblage est un ensemble de méthodes et de techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles des végétaux.

Le but ultime de la recherche sur les plantes médicinales est souvent l'isolement d'un ou plusieurs composés responsables d'une activité spécifique de la plante. De ce point de vue, les techniques générales de criblage phytochimique peuvent être d'une grande aide. Ces techniques permettent de détecter la présence dans les plantes de produits appartenant à des classes de composés normalement actifs physiologiquement. [2]

Le principe est basé sur des réactions de coloration et/ou de précipitation et la formation de complexes colorés et insolubles. Des réactifs appropriés sont responsables à la coloration observée. [3]

On fait l'analyse par deux méthodes :

##### II.4.1.1/screening phytochimique de la partie aérienne de la plante

Pour effectuer ce criblage phytochimique on doit préparer des extraits par une extraction solide-liquide des parties aériennes de la plante du genre *Plocama* dans des solvants polaires et apolaires, quatre extraits sont obtenus : l'extrait hydroéthanolique (HA), l'extrait chloroformique (C), l'extrait étherique (E) et l'extrait sulfurique (S) (Figure 4)

##### II.4.1.1.1/Préparation de l'extrait hydroéthanolique (HA)

On met dans un erlenmeyer :

- ✚ 10g du matériel végétal.
- ✚ 100 ml de mélange éthanol / eau (70/30).
- ✚ Après 24 h et filtration de filtrat, on obtient une solution de l'extrait hydroéthanolique (HA).

## II.4.1.1.2/Préparation de l'extrait chloroformique (C)

On met dans un erlenmeyer :

- ✚ 10g du matériel végétal (Broyée).
- ✚ 100 ml de chloroforme.
- ✚ Filtration de l'extrait chloroformique après 24 h. On obtient une solution de l'extrait chloroformique (C).

## II.4.1.1.3/ Préparation de l'extrait éthérique (E)

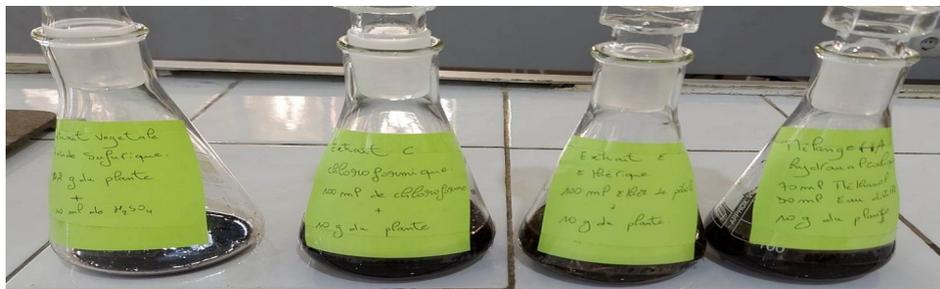
On met dans un erlenmeyer :

- ✚ 10g du matériel végétal (Broyée).
- ✚ 100 ml éther de pétrole.
- ✚ Filtration de l'extrait éthérique après 24 h, on obtient une solution de l'extrait éthérique (E).

## II.4.1.1.4/Préparation de l'extrait sulfurique (S)

On met dans un erlenmeyer :

- ✚ 0,2 g du matériel végétal (Broyée).
- ✚ 10 ml de l'acide sulfurique.
- ✚ Agitation pendant 2 minutes et filtration. On obtient une solution de l'extrait sulfurique (S).



**Figure (II.5) : Préparation des extraits pour le screening**

**Après 24 H puis filtration**



**Figure (II.6) : Les extraits après filtration**

### II.4.1.1.5/Différentes classes recherchées

#### II.4.1.1.5.a/Tannins

Dans 2 tubes où chacun contenant 2 ml de l'extrait hydroéthanolique, quelques gouttes de gélatine à 1% ont été ajoutées dans le premier tube, et quelques gouttes de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ , 1%) dans le second. L'apparition d'une couleur bleu noir indique la présence des tannins galliques, et qui vire vers le brun verdâtre montre la présence des tannins catechiques dans l'extrait, avec observation d'un précipité pour le test de gélatine [4].

#### II.4.1.1.5.b/ Quinones

Quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ , 10%) sont ajoutées à 2 ml de l'extrait éthérique. Après agitation, un changement de couleur de la phase aqueuse vers le jaune, rouge ou violette indique la présence des quinones [5].

#### II.4.1.1.5.c/Anthraquinones

À 2 ml de l'extrait chloroformique, on ajoute quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde de potassium ( $\text{KOH}$ , 10%). L'apparition d'une couleur rouge dans la phase aqueuse indique un test positif [6].

### II.4.1.2/Screening phytochimique des extraits

Pour chaque test les différents extraits sont solubilisés dans 1ml de méthanol.

#### II.4.1.2.1/Détection des tannins :

Une solution de  $\text{FeCl}_3$  diluée à 5% dans de l'éthanol est ajoutée à un tube à essai qui contient une quantité de l'extrait et d'eau. L'apparition d'une couleur verte indique la présence des tannins. [7]

#### II.4.1.2.2/Détection des terpènes

Dans un tube à essai contenant une quantité de l'extrait est ajouté 0.5 ml de chloroforme et 0.5 ml d'anhydride acétique, après dissolution il est ajouté 1ml d'acide sulfurique concentré. La réaction est effectuée à froid. La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet traduit la présence des terpènes. [8]

#### II.4.1.2.3/Détection des Saponosides (test de la mousse)

Dans un tube à essai, une quantité de bicarbonates de sodium et d'eau est ajoutée à quelques milligrammes d'extrait, le mélange est ensuite agité.

La présence de Saponosides se manifeste par l'apparition d'une mousse sous la forme d'alvéoles de miel stable. [9]

#### II.4.1.2.4/Détection des stérols (test de Salkowski)

La mise en évidence des stérols se fait en ajoutant 2 ml de chloroforme dans quelques milligrammes de l'extrait, puis 2 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré. Le mélange est secoué puis laissé au

repos quelques minutes. L'apparition de la couleur rouge dans la couche chloroforme indique la présence des stérols. [8]

**II.4.1.2.5/Détection des anthraquinones**

Une solution chloroforme/éther de pétrole est préparée dans les proportions (1:1). Quelques millilitres de la solution précédente sont ajoutés à un tube à essai qui contient déjà une quantité de l'extrait, puis quelques gouttes de NaOH sont ajoutées. L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des Anthraquinones. [10]

**II.4.1.2.6/Détection des sucres : (test de Fehling)**

Dans un tube à essai une quantité d'extrait est ajoutée à 1mL de méthanol, ensuite 1mL de solution de Fehling est ajouté au mélange précédent. Le tube à essai est placé dans un Bain Marie qui contient de l'eau bouillante pendant 8 minutes. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres. [11]

**II.5/Analyse quantitative****II.5.1/Dosage des polyphénols totaux**

La teneur en polyphénols dans les extraits végétaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Dans des tubes à essai 200µl de chaque extrait dilué dans l'éthanol à concentration (2.5 mg/ml) pour l'extrait éthanolique et (5mg/ml) pour l'extrait chloroformique a été ajoutés avec 1ml de FRC (réactif de Folin-Ciocalteu) diluée dans l'eau distillé (1:10). Après 4 min un volume de 800 µl d'une solution aqueuse de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés. Ensuite Les tubes sont incubés à l'obscurité, à température ambiante pendant 2 heures et l'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc qui contient de l'éthanol au lieu d'échantillon.

L'acide gallique (0 - 70µg/ml) est utilisé comme une référence pour tracer la courbe d'étalonnage (Figure II.7), à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux dans les différents extraits est calculée par l'équation suivante : [12]

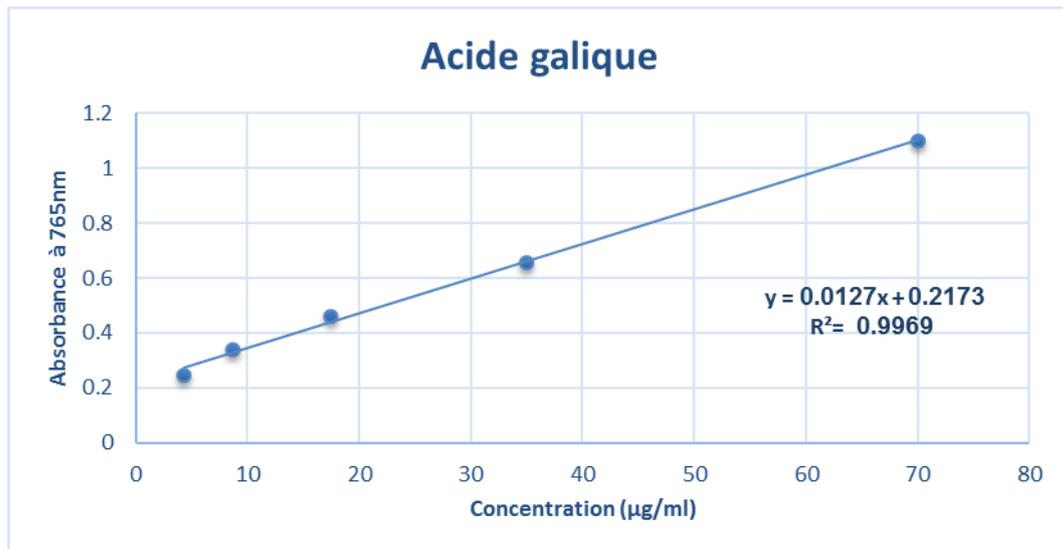
$$Teneur\ en\ polyphénols = \frac{C \times V}{M}$$

Où

C : concentration d'acide gallique (µg/ml)

V : volume de solution d'extrait (ml)

M : masse d'extrait (mg)



**Figure (II.7) :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG/mg}$  extrait).

### II.5.2/Dosage des Flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) décrite par [13] avec quelques modifications. Ajouter 50  $\mu\text{l}$  de solution hydroéthanolique d' $\text{AlCl}_3$  (10 %) à 1 ml de chaque extrait dilué dans l'éthanol (2.5 mg/ml éthanol, 5mg/ml chloroforme). Ensuite, 50  $\mu\text{l}$  d'une solution éthanolique d'acétate de sodium (1M) et 1,4 ml d'eau distillée ont été ajoutés. Après incubation pendant 1 h à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm contre un blanc contenant de l'éthanol à la place de l'échantillon.

La quercétine (0 - 30  $\mu\text{g/ml}$ ) a été utilisée comme standard pour établir la courbe d'étalonnage (Figure II.8), à partir de laquelle la concentration des flavonoïdes totaux dans les différents extraits est calculée par l'équation suivante [13]:

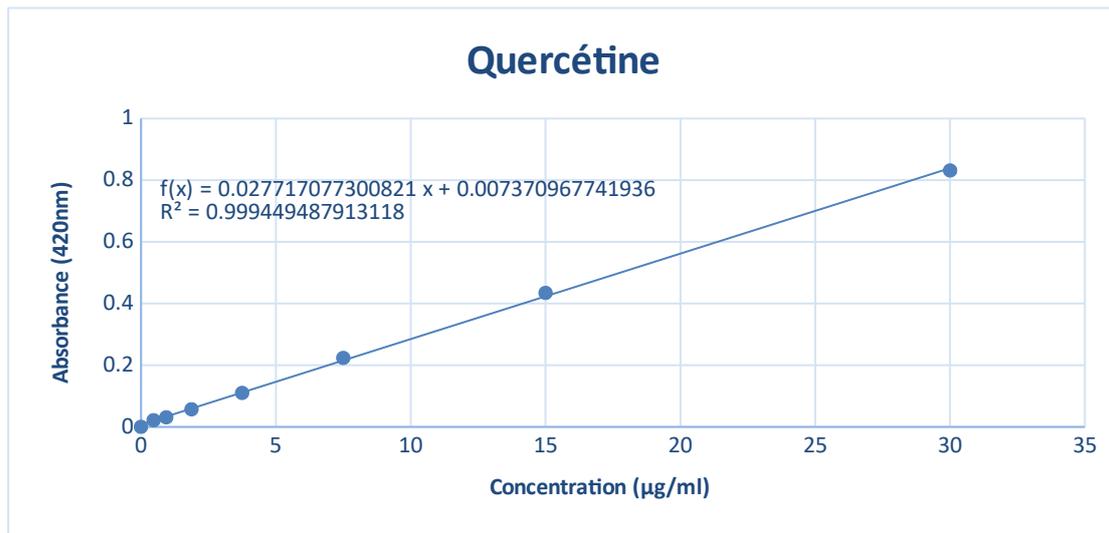
$$\text{Teneur en flavonoïdes} = \frac{C \times V}{M}$$

Où

C : concentration de la quercétine ( $\mu\text{g/ml}$ )

V : volume de solution d'extrait (ml)

M : masse d'extrait (mg)



**Figure (II.8) :** Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg}$  extrait).

### II.5.3/Dosage des tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline avec HCl. Elle est décrite par [14].

Ajouter un volume de 50  $\mu\text{l}$  de chaque extrait à 1500  $\mu\text{l}$  d'une solution de vanilline/méthanol à 4 % et mélanger vigoureusement. Ensuite, un volume de 750  $\mu\text{l}$  de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été ajouté. Le mélange résultant a été mis à réagir à température ambiante pendant 20 minutes. Mesurer l'absorbance à 550 nm par rapport à un blanc qui contient de méthanol au lieu de l'extrait.

Différentes concentrations entre 0 et 250  $\mu\text{g/ml}$  préparées à partir de solutions mères de catéchine permettront de tracer une courbe d'étalonnage. A partir de cette courbe on peut calculer la teneur en tanins condensés par l'équation suivante [14]:

$$\text{Teneur en Tanins} = \frac{C \times V}{M}$$

Où

C : concentration de la catéchine ( $\mu\text{g/ml}$ )

V : volume de solution d'extrait (ml)

M : masse d'extrait (mg)

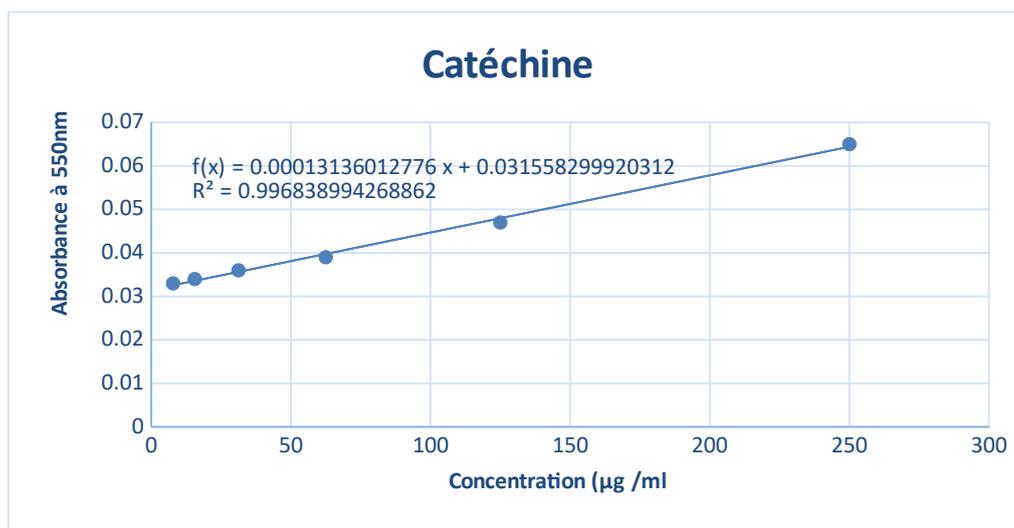


Figure (II.9) : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EC/mg}$  extrait).

## II.6/Etude de l'activité anti oxydante

### II.6.1/Méthode de DPPH (piégeage des radicaux libres)

L'étude de l'activité de piégeage des radicaux libres DPPH était effectuée avec quelques modifications selon le protocole expérimental de [15].

Un volume de  $400\mu\text{l}$  de chaque extrait à différentes dilutions dans l'éthanol (chloroformique, éthanolique) a été ajouté à  $1600\mu\text{l}$  d'une solution de DPPH diluée dans l'éthanol à concentration de  $0.03\text{mg/ml}$  préparé dans les mêmes conditions avec les dilutions des extraits. Le mélange a été incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. après cette durée les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de  $517\text{nm}$  contre un blanc qui est l'éthanol. Le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception de l'extrait à tester qui a été remplacé par un volume égal de l'éthanol. On note que chaque test fait l'objet de 3 répétitions.

La solution à différentes concentrations ( $0 - 0.2\text{ mg/ml}$ ) de l'antioxydant de référence (acide ascorbique) représente le témoin positif qui subit les mêmes conditions expérimentales.

Le pourcentage d'activité piégeant les radicaux DPPH de chaque extrait a été calculé comme suit [16]:

$$\text{Inhibition \%} = \left| \frac{A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \right| \times 100$$

Avec : I% : Pourcentage d'inhibition de DPPH°

Abs contrôle : L'absorbance du contrôle négatif .

Abs Echantillon : Absorbance de l'extrait.

### II.6.2/Test de blanchissement du $\beta$ -carotène

La méthode décrite par [16], était utilisés pour réaliser le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène avec quelques modifications. 2mg de béta carotène sont dissout dans 10ml de chloroforme, cette solution a été ajoutés à 20 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 pour former une émulsion. Après l'évaporation de chloroforme sous vide, un volume de 100ml d'eau distillé a été additionnée sous agitation. 4,8ml de l'émulsion formée ont été versés dans des tubes à essai qui contient 0.2ml de chaque extrait dilué dans l'éthanol (éthanolique, chloroformique) après agitation les tubes sont placés dans un bain-marie à 50°C pendant 2h et la cinétique de la décoloration de l'émulsion est suivie par mesure de l'absorbance à 470 nm pendant des intervalles de temps : 30 min, 1h, 1 :30h et 2h.

Les mêmes étapes sont réalisées pour ce qui concerne le contrôle positif qui contient le BHT (0.1 mg/ml) et pour le contrôle négatif qui contient de l'éthanol au lieu d'échantillon.

Le pourcentage de l'activité antioxydante est calculé en utilisant l'équation suivante [17]:

$$AA \% = \frac{A - B}{C - D} \times 100$$

Avec : AA% : activité antioxydante %

Abs échantillon t=0 : Absorbance de l'échantillon à t=0

Abs échantillon t=120 : Absorbance de l'échantillon à t=120 min

Abs contrôle t=0 : Absorbance du blanc à t=0

Abs contrôle t=120 : Absorbance du blanc à t=120 min.

## II.7/Etude de l'effet inhibiteur de corrosion des extraits :

### II.7.1Etude gravimétrique :

Le but de notre étude était de déterminer le comportement de l'acier XC48 vis-à-vis des phénomènes de corrosion uniforme en milieu acide HCl en présence et sans inhibiteur.

#### II.7.1.1/ Matériel utilisé :

Nous avons apporté une pièce d'acier XC48 fournie par la société "TRAFILIX industrie pro distributeur" (Boufarik –Blida).

La pièce était découpée en petites morceaux identiques des dimensions (1.4; 1.4; 0.4) cm, Dans la société de fabrications de pièces mécaniques “ MK industrie ” (Beni Tamou –Blida).

La composition chimique et massique de l'électrode utilisé qui est un acier XC48 est donné dans le tableau suivant :

**Tableau (II.1) :** composition chimique de métal étudié

Elément	C	S	Fe	P	Si	Mn	Cr	Mo	Ni	Cr+Mo+Ni
%massique	0.425	0.025	97.55	0.013	0.226	0.735	0.29	0.0530	0.19	0.365

**II.7.1.2/Préparation des surfaces des métaux**

Après avoir découpé le métal, on passe au polissage afin d'éliminer les pellicules d'oxyde et aussi les différents dépôts qui se forment sur la surface des pièces métalliques pour avoir un bel aspect brillant, qui peut donner un effet miroir. Ce polissage se fait à l'aide d'une polisseuse sous jet d'eau de type « Minitect 233 », en utilisant du papier abrasif à différents granulométries 240,400,600 et 800µm.



Figure ( II.10) : Diapositif expérimental d'une polisseuse

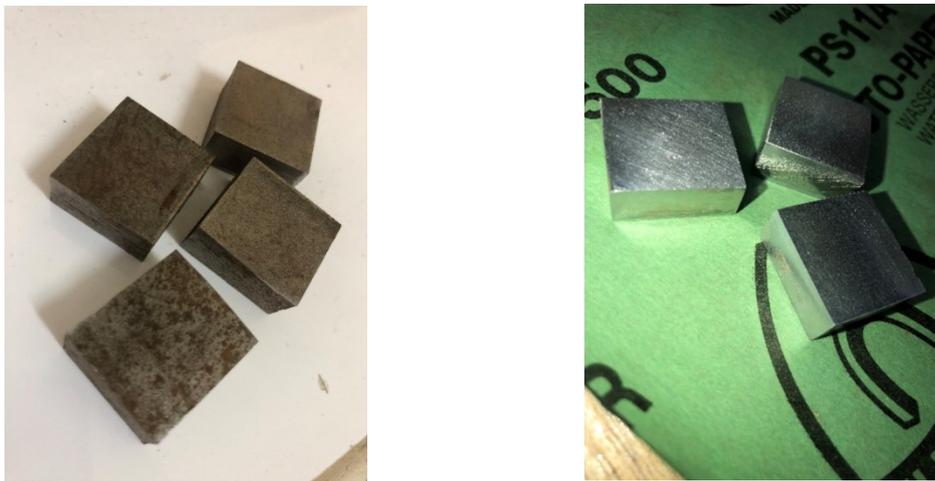


Figure (II.11) : la pièce XC48 avant et après le polissage.

**II.7.3/Solution corrosive**

Pour obtenir une solution de HCl 1M, on fait une dilution de la solution commercialisée concentrée de densité  $d=1.18$  et de pourcentage en masse de 37%.

Dans une fiole jaugée de 500ml on verse une petite quantité d'eau distillée après on verse un volume de 41.6 ml de HCl concentrée et on termine par l'eau distillée jusqu'à le trait de jauge.

### II.7.3.1/Préparation des solutions diluées

Les solutions diluées sont préparées dans des béchers de 100 ml où les différentes concentrations en ppm (500,1000,1500et 2000) des extraits éthanolique et chloroformique de l'espèce du genre *Plocama* ont été préparés par dilution dans 30 ml de HCl 1M et 10 ml d'eau distillée. On ajout un 5ème bécher qui contient les mêmes composés précédents mais sans extraits.

Après avoir préparées les solutions diluées, les pièces métalliques sont fixées avec des files fixés avec des tiges en bois le tout est introduites dans les béchers des solutions diluées.



**Figure (II.12) :** les pièces métalliques sont émergées dans les solutions diluées

- ☒ La vitesse moyenne de la corrosion ( $V_{corr}$ ) en présence et en absence d'inhibiteur est calculée par la formule suivante :

$$V_{corr} = \frac{m_i - m_f}{S \cdot t} \quad \left( \frac{g}{cm^2} \cdot h \right)$$

$V_{corr}$  : Vitesse de corrosion

$m_i$  : masse initiale du l'acier

$m_f$  : masse finale du l'acier

s : surface du l'acier

t : temps d'émersion

- ☒ L'efficacité inhibitrice E (%) du composé synthétisé est déterminée en utilisant l'équation suivante :

$$E_w = \frac{W_{corr} - W_{corr(inh)}}{W_{corr}} \times 100$$

Où  $W_{corr}$  et  $W_{corr(inh)}$  sont les vitesses de corrosion de l'échantillon après immersion dans la solution respectivement sans et avec inhibiteur.

**II.8/Activité antibactérienne et antifongique *in vitro* :**

**II.8.1/Matériau bactérienne :**

Les extraits végétaux de L'espèce du genre *Plocama* était testé par cinq bactéries dans le cadre de recherche de l'activité antibactérienne.

Les cinq bactéries utilisées sont : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, et *Salmonelle aboney* NCTC 6017 de référence sous forme de lots "American Type Culture Collection" et "National Collection of Type Cultures ". Toutes les souches bactériennes ont été choisies par leurs fréquences élevées de contamination et leur pathogénicité dominante. Ces souches sont fournies par laboratoires d'hygiène et de microbiologies de l'établissement hospitalière de "Ferroudja" dans la wilaya de Blida.

**Tableau (II.2) : Souches bactériennes testés et leurs provenances.**

Souches	Forme	Gram	Code	Provenances
<i>Escherichia coli</i>	Bacille	-	ATCC 8739	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe PHARMALLIANCE-ALGER
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille	-	ATCC 9027	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe PHARMALLIANCE-ALGER
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacille	+	ATCC6633	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe PHARMALLIANCE-ALGER
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci	+	ATCC 6538	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe PHARMALLIANCE-ALGER
<i>Salmonelle aboney</i>	Bacille	-	NCTC 6017	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe PHARMALLIANCE-ALGER

**II.8.2/Matériels fongiques**

Les deux champignons utilisés pour l'activité antifongique sont *Aspergillus brasiliensi* ATCC 16404, et *Candidat albicans* ATCC 10231. Ces souches sont fournies par Laboratoires d'hygiène et de microbiologies de l'établissement hospitalière de "Ferroudja" dans la wilaya de Blida.

Tableau (II.3) : Les champignons testés et leurs provenances

Champignon	Code	Provenance
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC16404	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe PHARMALLIANCE-ALGER
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	Laboratoire de Contrôle Microbiologique du groupe PHARMALLIANCE-ALGER

### II.8.3/ Préparation des extraits

Dans l'étude de l'activité antibactérienne, deux concentrations différentes sont utilisées : 20 mg/ml et 50 mg/ml pour les trois extraits (éthanolique, chloroformique et cyclohexanique). Cependant, dans l'activité antifongique, une seule concentration de 20 mg/ml a été choisie pour chaque extrait (éthanolique, chloroformique et cyclohexanique).

### II.8.4/ Tests microbiologique : Méthode de diffusion en milieu gélosé

Le test de sensibilité des bactéries est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (milieu MUELLER HINTON pour les bactéries et milieu GELOSE SABOURAUD pour les champignons), cette méthode appelée aussi la méthode des disques [18-19] dont le principe est inspiré de l'antibiogramme visant à tester la sensibilité des souches bactérienne et les champignons par diffusion en milieu solide.

Dans des boîtes de pétries stériles, 20 ml de gélose (Mueller Hinton et Sabouraud) sont coulés et laissés jusqu'à la solidification. Après le changement d'état physique et à l'aide des écouvillons, les bactéries et les champignons sont ensemencés sur toute la surface de milieu solide MH et SB respectivement.

Des disques en papier Whatman n1 de diamètres 6mm sont imprégnés d'un volume de chaque extrait et déposé à la surface du milieu solidifié [20,21]. Les boîtes pétries sont incubées dans une étuve à 25°C pour les champignons et 37°C pour les bactéries.

Les mêmes étapes sont suivies pour les témoins positifs (La Gentamycine cas des bactéries et L'Econazole cas des champignons) et le témoin négatif qui est le DMSO.

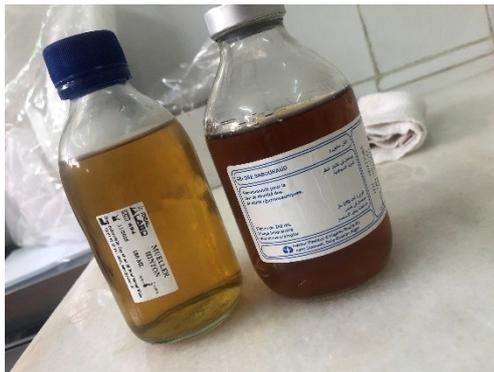
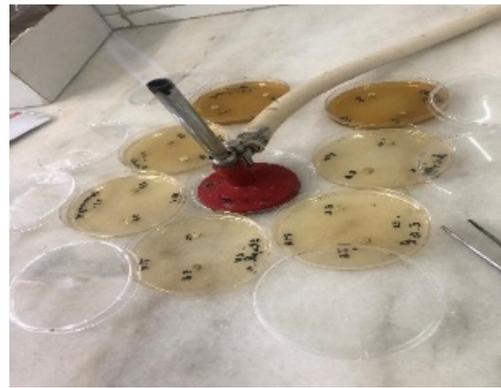


Figure (II.13) :



Fig

Préparation des milieux de culture

**II.8.5/Expression des résultats**

La détermination d'activité antibactérienne et fongique a été estimés en mesurant le diamètre (en mm) de la zone d'inhibition induit par les différents extraits autour du disque à l'aide d'une règle. Les résultats sont indiqués par les signes suivants [22] pour la sensibilité de la souche vis-à-vis des extraits testés :

**Tableau (II.4) :** signification des résultats des zones d'inhibition

$\varnothing < 8\text{mm}$	-	Résistant
$9 < \varnothing < 14$	+	Sensible
$15 < \varnothing < 19$	++	Très sensible
$\varnothing > 20$	+++	Extrêmement sensible

**II.9/Conclusion**

Les travaux de screening, de dosages et d'évaluation des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et anticorrosion ont permis d'identifier qualitativement et quantitativement les différents extraits de la plante étudiée. Les résultats obtenus dans cette partie de l'étude seront présentés en détail dans le chapitre III.

## Références bibliographiques

1. (2008) Recensement de la population algérienne, wilaya de Blida, sur le site de l'ONS.
2. Mentenga Masumbuko (1996) "Screening phytochimique de "*Achillea Millefolium* 1 " et "*Bridelia Brideliifolia* " et tests d'activité biologique sur "*Escherichia Coli* ", "*Salmonella Polyvalento* " et "*Shigella Flexneri* " par la méthode de tests antibiogrammes", Institut supérieure pédagogique de Bukavu.
3. Farnsworth N.R. (1966), " Biological and phytochemical screening of plants ". *Journal of pharmaceutical sciences*, V. 55, 225-276.
4. Dohou N, Yamni K, Gmira N, Idrissi Hassani LM. (2003), "Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro Marocaine, *Thymelaea lychroides*." *Acta Botanica Malacitana*, V. 29 , 233–239.
5. Ribérrreau. GP. (1968), "Les composés phénoliques des végétaux." Edition Dunod, Paris.
6. Rizk. AM., (1986). ."Constituents of plants growing in Qatar". *Fitoterapia*.
7. Dohou, R., et al., (2003) Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4) ,61-78.
8. Sheel, R., K. Nisha, and J. Kumar, (2014),"Preliminary phytochemical screening of methanolic extract of *Clerodendron infortunatum*". *IOSR J. Appl. Chem*, . 7(1) ,10-3.
9. N'Guessan, K., et al., (2009) Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*,.6(1).
10. Malec, L.S. and A. Pamilio (2003), Herbivory effects on the chemical constituents of *Bromus pictus*. *Mol. Med. Chem.* 1 , 30-38.
11. Bekro, Y.-A., et al., (2007) "Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpinaceae)". *Sciences & Nature*. 4(2) ,217-225.
12. Nickavar, Bahman, and Naser Esbati. (2012), "Evaluation of the Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Three *Thymus* Species." *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, V. 5, 119–125.
13. Lin J.Y, Tang C.Y. (2007), " Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation ". *Food Chem*, V. 101, 140–147.
14. R. Julkunen-Titto, (1985), "Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics" *Journal of Agricultural and Food chemistry* , V (33), 213.

15. Kroyer, G., and N. Hegedus. (2001), "Evaluation of Bioactive Properties of Pollen Extracts as Functional Dietary Food Supplement." *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, V. 2, 171–174.
16. Raden A, Sanro T, Kazutaka I. (2009), " In Vitro Antioxidative Activities and Polyphenol Content of *Eugenia Polyantha* Wight Grown in Indonesia. " *Pakistan journal of biological sciences : PJBS*, V. 12, 1564-1570.
17. Ismail, Amin Jr, and Siewhong Tan. (2002),"Antioxidant activity of selected commercial seaweeds." *Malaysian journal of nutrition*, V. 8,167-177.
18. Celiktas OY, Hames Kocabas EE, Bedir E, et al. (2007) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., depending on location and seasonal variations. *Food Chem* 100(2) : 553-9
19. Bssaibis F, Gmira N, Meziane M (2009) Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* L. W. Greuter. *Rev Microbiol Ind San Environ* 3 : 44-55
20. Bekhechi C, Attik-Bekkara F, Abdelouhib DE (2008) Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytotherapie* 6 : 153-9
21. Ngameni B, Kuete V, Simo IK, et al. (2009) Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata* (Moraceae). *S Afr J Bot* 75(2) : 256– 61
22. Ponce AG, Fritz R, Del Valle C, et al. (2003) Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lwt-Food Sci Technol* 36(7) : 679-84

## **Chapitre III : Résultats & discussions**

**III/ Introduction**

Le chapitre trois de notre étude se divise en deux parties distinctes chacune abordant un aspect spécifique de notre recherche. La première partie concerne l'analyse phytochimique et la quantification des polyphénols et flavonoïdes totaux présents dans les extraits des parties aériennes de la plante étudiée. Différentes techniques d'analyse ont été utilisées pour identifier et quantifier ces composés chimiques. Les résultats détaillés de cette analyse seront présentés et discutés.

La deuxième partie du chapitre III est consacrée à l'évaluation des activités antioxydante, antimicrobienne et anticorrosion des extraits de la plante. Des tests spécifiques ont été réalisés pour évaluer ces activités et les résultats correspondants seront présentés et discutés individuellement. Des comparaisons et des interprétations seront fournies pour mieux comprendre les effets des extraits sur ces activités.

**III.1/Le Rendement des extractions**

Les extraits de la plante (200 g) ont été obtenus par macération dans des solvants de différentes polarités. Les extraits liquides ont ensuite été évaporés jusqu'à séchage complet pour éliminer les solvants, puis ils ont été pesés. Le rendement des extraits a été calculé en pourcentage par rapport à la masse initiale de matériau végétal immergé. Les valeurs de rendement sont présentées dans le tableau III.1 suivant :

**Tableau (III.1) : Rendement d'extraction**

<b>Extrait</b>	<b>La masse</b>	<b>Le rendement</b>
<b>Cyclohexanolique</b>	0.72g	0.36%
<b>Chloroformique</b>	9.31g	4.656%
<b>Ethanolique</b>	17.99g	8.995%

Le rendement d'extraction des extraits végétaux peut varier en fonction de différents facteurs tels que l'espèce végétale, les conditions de séchage, la composition métabolique spécifique et la polarité du solvant utilisé. La méthode d'extraction par macération à froid est employée dans cette étude, permettant de préserver les composés sensibles à la chaleur et de minimiser les pertes ou dégradations potentielles. Il est important de noter que chaque plante et chaque procédé d'extraction peut présenter des variations dans le rendement en raison de leurs caractéristiques individuelles. L'ajustement adéquat des conditions expérimentales et des paramètres d'extraction est essentiel pour obtenir un rendement optimal tout en préservant les composés d'intérêt dans les extraits.

**III.2/Analyse qualitative****III.2.1/Screening chimique de la plante fraîche**

Le screening phytochimique constitue une étape importante dans l'identification préliminaire des composés chimiques présents dans une plante. Cependant, il convient de noter que cette méthode ne permet pas de quantifier précisément les composés, mais plutôt de fournir une indication qualitative de leur présence.

Les résultats globaux du criblage chimique de la plante fraîche sont regroupés dans le tableau III.2.

**Tableau (III.2) : Résultats de screening de la partie aérienne de la plante**

Extrait	Test	Coloration		Résultats
Hydroéthanolique (HA)	Tanins Catechiques (gélatine)	Brun verdâtre	+++	
	Tanins gallique (FeCl <sub>3</sub> )	Bleu noir	+++	
Ethérique (E)	Quinones	Jaune	++	
Chloroformique (C)	Antraquinone	Incolore	-	

(+++): Indique relativement une forte présence ; (++) : Indique relativement une présence moyenne ; (+) : Indique relativement une faible présence ; (-) : Indique relativement une absence totale

D'après les résultats présentés dans le tableau III.2, notre étude révèle la présence de tanins, notamment les tanins catéchiques et galliques, dans les extraits de la plante étudiée. De plus, nous avons identifié la présence de quinones. Cependant, nous n'avons pas détecté la présence d'anthraquinones ni de coumarines dans les extraits analysés.

### III.2.1.a/Les tanins

#### III.2.1.a.1/ Les tanins catechiques

L'apparition d'une coloration brun verdâtre et d'une précipitation lors du test de gélatine avec l'extrait hydro-alcoolique confirme la présence de tanins catéchiques ou de tannins condensés. Ces résultats suggèrent que l'espèce du genre *Plocama* est abondante en tanins catéchiques.

#### III.2.1.a.2/Les tanins galliques

Le test des tanins galliques (ou tanins hydrolysables) révèle un virage de couleur vers un bleu noir foncé lorsqu'on utilise du  $\text{FeCl}_3$ . Ce changement de couleur indique une forte présence de ce type de tanins dans l'extrait hydro-alcoolique testé.

D'après Iserin (2001) [1], les tanins ont la capacité d'arrêter les hémorragies et de combattre les infections. Ces tanins agissent en tant que donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques générés lors de la peroxydation.

III.2.1.b/Les quinones

Le tableau III.2 présente également la teneur en quinones libres dans l'extrait. La présence de ces quinones est confirmée par un changement de couleur vers le jaune dans la phase aqueuse (la phase inférieure). Les résultats indiquent une présence moyenne de ces composés dans la plante. Les quinones ont la capacité d'irriter et de provoquer des contractions des parois du gros intestin, ce qui a un effet laxatif. Cela stimule les mouvements intestinaux et facilite le transit intestinal.

III.2.2/ Caractérisation de l'extrait

Les résultats du screening des extraits obtenus sont présentés dans le tableau suivant (Tableau III.3).

Tableau (III.3) : Résultats de screening des extraits

Extrait	Tests	Colorations	Résultats	
Ethanolique	Tanins	Verte	++	
	Alcaloïdes	Coloration brune Absence de précipité	-	
	Terpènes	Rouge brunâtre	+++	
	Stérols	Rouge	+	
	Anthraquinones	Incoloration	-	
	Sucres	Incoloration	-	
	Tanins	Verte	+++	
	Alcaloïdes	Incoloration	-	

<b>Chloroformique</b>	Terpènes	Violet	+++	
	Saponosides	Absence de mousse	-	
	Stérols	Incoloration	-	
	Anthraquinones	Incoloration	-	
	Sucres	Incoloration	-	
<b>Hexanolique</b>	Tanins	Incoloration	-	
	Terpènes	Rouge	++	

Lors de la caractérisation des trois extraits (cyclohexanolique, chloroformique et éthanolique) obtenus par macération à froid de l'espèce du genre *Plocama*, on observe une forte présence de terpènes dans les trois extraits. Les tanins sont présents dans deux extraits seulement.

Quant aux sucres et aux saponosides, ils sont présents à faible concentration, chacun dans un seul extrait. En revanche, les anthraquinones et les alcaloïdes sont totalement absents des trois extraits.

### III.2.2.1/Les terpènes

Selon notre étude, la présence de composés terpéniques est révélée par l'apparition d'une coloration violette ou rouge, indiquant ainsi une concentration significative de ces composés dans les trois extraits. Les terpènes sont reconnus pour leurs propriétés antibactériennes et cardiotoniques [2] et jouent un rôle dans la protection contre les agressions fongiques[3].

### III.2.2.2/Les tanins

La forte présence des tanins galliques est confirmée par l'apparition d'une coloration verte dans les extraits chloroformique et éthanolique lors du test avec le  $\text{FeCl}_3$ .

## III.3/Analyse quantitative

### III.3.1/ Dosage des polyphénols

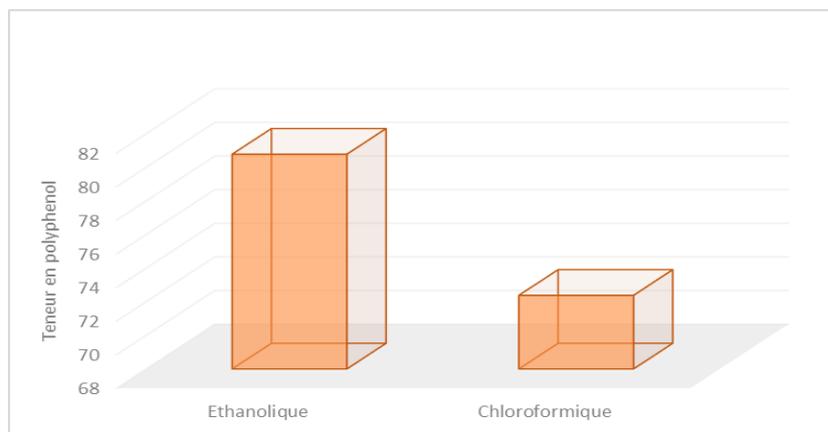
L'analyse quantitative des phénols totaux a été réalisée en utilisant l'acide gallique comme étalon et en traçant une courbe d'étalonnage par régression linéaire (Figure II.7). Les valeurs obtenues sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (Tableau III.4).

**Tableau (III.4):** Résultats de dosage des polyphénols totaux

Extrait	Quantité des polyphénols totaux en $\mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait	Equation de la courbe d'étalonnage	$R^2$
<b>Chloroformique</b>	72.38 $\pm$ 9.368	$y=0.0127x+0.2173$	0.9969
<b>Éthanolique</b>	80.78 $\pm$ 3.012		

Les teneurs en polyphénols totaux des deux extraits se situent entre 70 et 80  $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait. L'extrait éthanolique présente la concentration la plus élevée, avec une teneur de 80,78  $\pm$  3,012  $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait, tandis que l'extrait chloroformique affiche une valeur moyenne de concentration de 72,38  $\pm$  9,368  $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait.

La quantité de polyphénols dans les extraits étudiés varie en fonction du solvant utilisé lors de l'extraction. L'extrait éthanolique présente une concentration plus élevée de polyphénols totaux par rapport à l'extrait chloroformique. Cela suggère que la polarité du solvant joue un rôle dans l'efficacité de l'extraction des polyphénols. Les solvants plus polaires, tels que l'éthanol, sont capables d'extraire davantage de polyphénols des matières végétales, ce qui se traduit par des concentrations plus élevées dans l'extrait final. Il est important de prendre en compte cette dépendance de la polarité du solvant lors de l'extraction des polyphénols afin d'obtenir des résultats précis dans les études phytochimiques. Les résultats du dosage des polyphénols sont représentés sous forme d'histogramme comme le montre la figure III.1 suivante :



**Figure (III.1) :** Histogramme représentatif des teneurs en polyphénols des extraits

### .III.3.2/Dosage des Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium en mesurant l'absorbance des extraits et de référence utilisée à 420 nm. Cette teneur est calculée par l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard (Figure II.8). Les valeurs obtenues sont exprimées en microgramme équivalent de la quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg Extrait}$ ) (Tableau III.5).

**Tableau (III.5) :** Résultats de dosage des flavonoïdes totaux

Extrait	Quantité des flavonoïdes totaux en $\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$	Equation de la courbe d'étalonnage	$R^2$
Chloroformique	52.26±4.99	y=0.0277x+0.0074	0.9994
Éthanolique	67.26±2.11		

Les résultats du Tableau III.5 révèlent que la teneur en flavonoïdes est plus élevée dans l'extrait éthanolique ( $67,26 \pm 2,11 \mu\text{g EQ/mg d'extrait sec}$ ) que dans l'extrait chloroformique ( $52,26 \pm 4,99 \mu\text{g EQ/mg d'extrait sec}$ ). Les flavonoïdes font partie de la famille des polyphénols, mais il convient de noter que tous les polyphénols ne sont pas des flavonoïdes.

D'après les études réalisées sur des plantes de la même famille, il est observé que la plante étudiée présente des concentrations de flavonoïdes plus élevées que celles rapportées par [4]. Les extraits d'acétone 70% des feuilles de *Coffea macrocarpa* et *Chassalia grandifolia* (Rubiaceae) présentent des concentrations de l'ordre de 18 et 7  $\mu\text{g EQ/mg}$  respectivement.

Cependant, une étude menée par [5] a enregistré une teneur encore plus élevée en flavonoïdes, atteignant 160,2  $\mu\text{g EQ/mg}$  dans l'extrait éthanolique (80%) de *Paederia foetida* (Rubiaceae).

Ces comparaisons mettent en évidence la variabilité des concentrations de flavonoïdes entre les différentes espèces de plantes, même au sein de la même famille. La plante étudiée présente des concentrations plus élevées de flavonoïdes par rapport à certaines espèces de Rubiaceae, mais des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre la diversité et les facteurs qui influencent les teneurs en flavonoïdes dans les plantes.

Dans notre étude, les teneurs en polyphénols totaux sont supérieures à celles des flavonoïdes dans les deux extraits. Cela indique la présence d'autres types de polyphénols dans les extraits. Parmi ces composés polyphénoliques supplémentaires, on peut citer les tanins. Il est donc probable que les extraits contiennent une combinaison de flavonoïdes et d'autres polyphénols, tels que les tanins.

Il est essentiel de poursuivre les analyses et les études afin de caractériser et d'identifier plus précisément les différents types de polyphénols présents dans les extraits. Cela nous permettra de mieux comprendre leurs effets biologiques potentiels et leurs applications éventuelles.

Les résultats du dosage des Flavonoïdes sont représentés sous forme d'histogramme comme le montre la figure III.2 suivante :

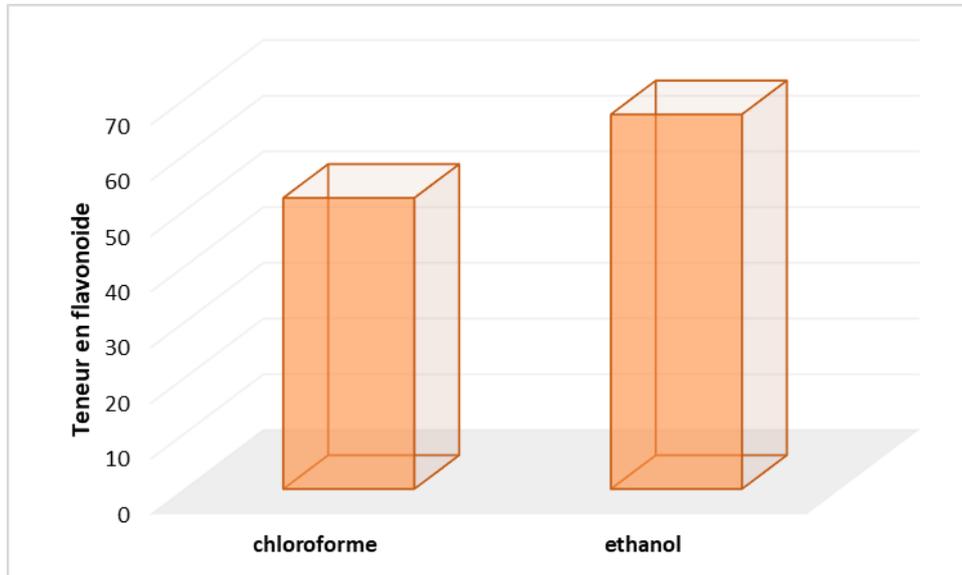


Figure (III.2) : Histogramme représentatif des teneurs en Flavonoïdes des extraits

III.3.3/Dosage des tannins

La quantification des tannins a été réalisée en utilisant la méthode de la vanilline. Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant de la catéchine comme contrôle positif. Les valeurs obtenues sont exprimées en microgrammes équivalents de catéchine par milligramme d'extrait (µg EC/mg E) selon le Tableau III.6.

Tableau (III.6) : Résultats de dosage des Tannins condensée

Extrait	Quantité des tannins condensés en µg EC/mg d'extrait	Equation de la courbe d'étalonnage	R <sup>2</sup>
Chloroformique	56.47	y=0.000144x+0.0316	0.9968
Éthanolique	279.61		

Le dosage des tanins a révélé que la fraction éthanolique de notre plante présente une teneur beaucoup plus élevée en tanins condensés (279 µg EC/mg E) par rapport à la fraction chloroformique. Lors d'une étude précédente menée par[4] sur l'extrait d'acétone 70% des feuilles de Coffea mauritiana, une teneur en tanins de l'ordre de 2,71 ± 0,05 µg EC/mg a été notée, ce qui

est environ cent fois inférieur à celle de notre extrait éthanolique. Les tanins condensés sont des composés phénoliques présents dans de nombreux végétaux. Ils se caractérisent par leur capacité à former des liaisons entre les molécules de tanin, créant ainsi des structures polymériques complexes. Les tanins condensés sont souvent solubles dans les solvants polaires, tels que l'éthanol, en raison de leurs propriétés chimiques. Cette affinité plus élevée explique la concentration supérieure de tanins condensés dans la fraction éthanolique. Cependant, il est important de noter que la teneur en tanins condensés peut varier en fonction de plusieurs facteurs. Dans cette étude, la fraction éthanolique s'est avérée être une source intéressante de tanins condensés. Les résultats du dosage des tannins sont représentés sous forme d'histogramme comme le montre la figure III.3 suivante



**Figure (III.3):** Histogramme représentatif des teneurs en tannins des extraits

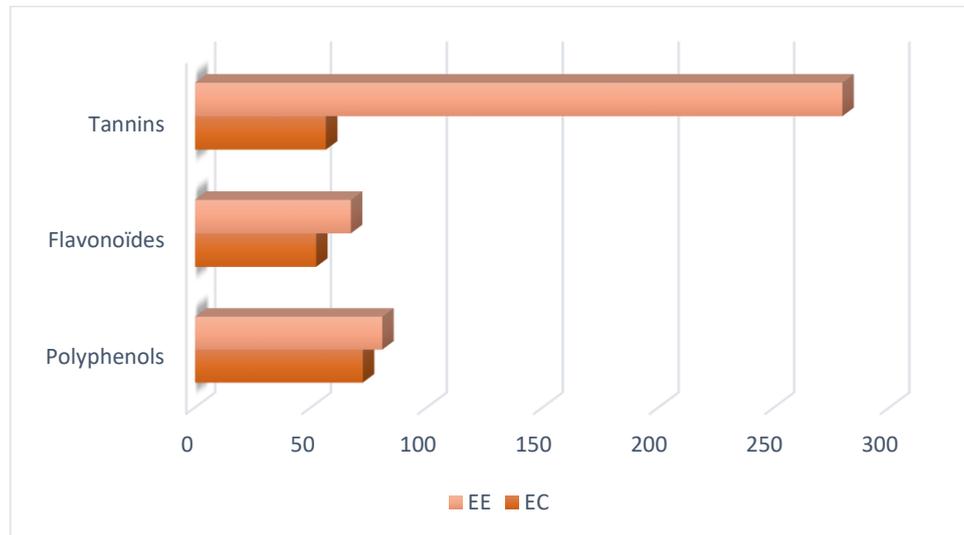
Les résultats des dosages des métabolites secondaires montrent que l'extrait éthanolique présente des teneurs supérieures par rapport à l'extrait chloroformique. Cette variation peut s'expliquer par plusieurs facteurs.

Tout d'abord, la nature chimique des métabolites secondaires peut influencer leur extraction et leur solubilité dans différents solvants. Certains métabolites peuvent avoir une meilleure affinité pour l'éthanol, ce qui facilite leur extraction dans l'extrait éthanolique.

De plus, le choix du solvant d'extraction peut également jouer un rôle important. L'éthanol est un solvant polaire largement utilisé dans l'extraction de composés phénoliques, tandis que le chloroforme est un solvant moins polaire. La polarité du solvant peut influencer la solubilité des métabolites et donc leur concentration dans les extraits.

Enfin, les conditions opératoires telles que le temps d'extraction, la température et la méthodologie utilisée peuvent également contribuer à la variation des teneurs en métabolites entre les extraits.

Il est important de prendre en compte tous ces facteurs lors de l'interprétation des résultats des dosages des métabolites secondaires, et de reconnaître que l'extraction de ces composés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions expérimentales. L'histogramme dans la figure III.4. représente le taux de polyphénols, flavonoïdes et tanins dans les extraits du genre *Plocama*



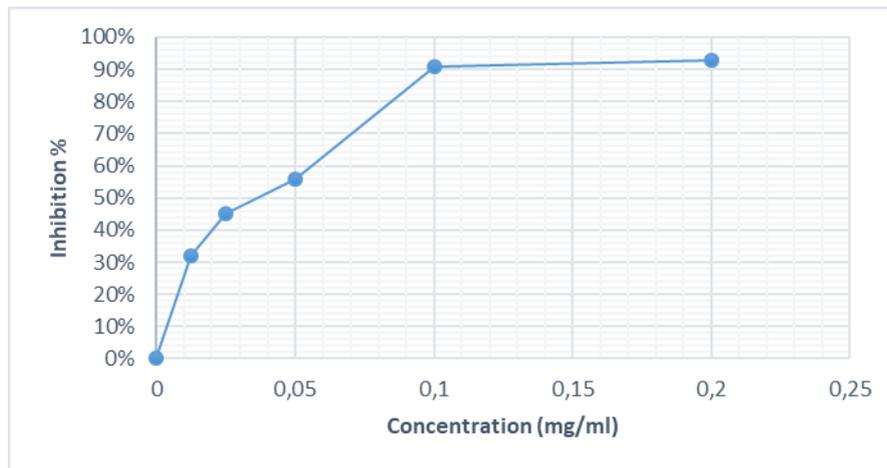
**Figure (III.4) :** Histogramme représentatif des teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tannins dans les extraits du genre *Plocama*

#### III.4/ Détermination du potentiel antioxydant des extraits

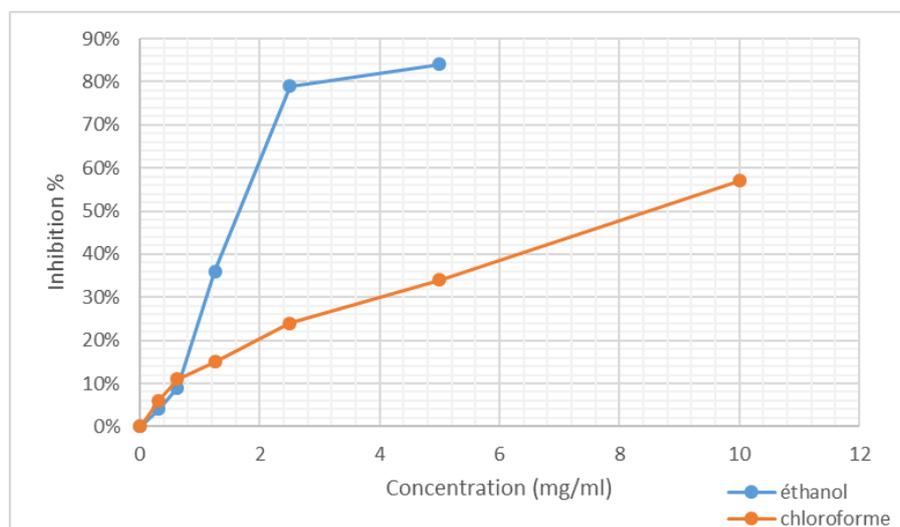
Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer les propriétés antioxydantes des extraits chloroforme et éthanol : la méthode du piégeage du radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène.

##### III.4.1/ Piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des deux extraits a été évaluée à l'aide de la méthode du DPPH. La capacité antioxydante totale des extraits a été exprimée en équivalents d'acide ascorbique. L'absorbance a été mesurée à 517 nm, Les figures III.5 et III.6 représentent les courbes du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration en mg/ml pour les deux extraits (extrait éthanolique et extrait chloroformique) ainsi que pour la référence (acide ascorbique).



**Figure (III.5) :** Pourcentage d'inhibition % du radical libre DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique



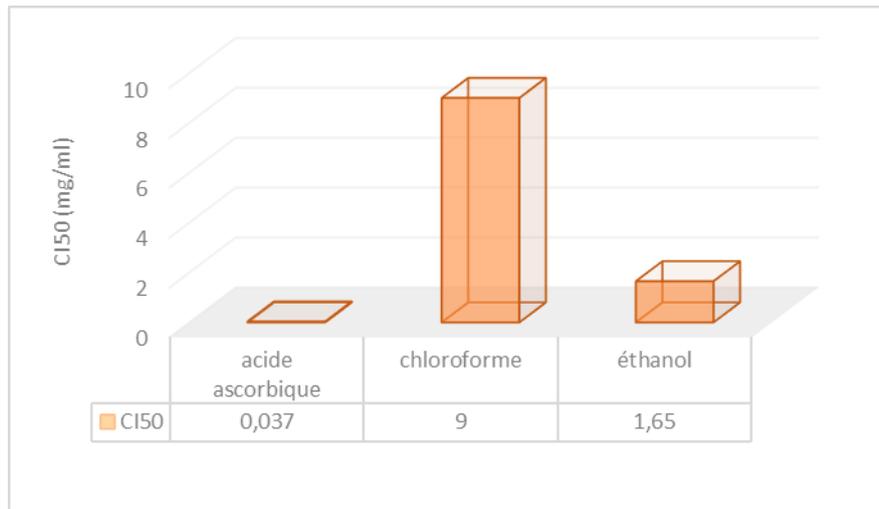
**Figure (III.6) :** Pourcentage d'inhibition % du radical libre DPPH en fonction de concentration des deux extraits

Le pourcentage d'inhibition % du DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la référence ou pour les extraits testés.

Le  $IC_{50}$  est inversement proportionnelle à la capacité antioxydant d'un composé, car elle indique la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire les concentrations de radicaux libres de 50 %.

Plus la valeur  $IC_{50}$  est faible, plus l'activité antioxydante du composé est élevée [6]. Les valeurs de la concentration à laquelle une inhibition de 50 % se produit ont été déterminées en interpolant les courbes de pourcentage d'inhibition de DPPH dans la plage linéaire d'inhibition = 50% .

Les résultats des  $IC_{50}$  sont schématisés sur la figure (III.7).



**Figure (III.7) :** Histogramme représentatif des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% de DPPH des différents extraits et de référence du test DPPH en (mg/ml).

Selon les résultats des valeurs d'IC<sub>50</sub> enregistrées, il est possible de conclure que l'extrait éthanolique présente une activité antioxydante plus élevée que l'extrait chloroformique, avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> respectives de 1,65 mg/ml et 9 mg/ml. Cependant, les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits de la partie aérienne de l'espèce étudiée sont plus faibles par rapport à ceux obtenus avec l'acide ascorbique, dont la valeur est d'environ 0,037 mg/ml. Il convient de noter que l'acide ascorbique utilisée comme standard correspond à un produit purifié, contrairement à nos extraits qui représentent un mélange de composés. D'autres études ont également rapporté des activités antiradicalaires plus élevées. Par exemple, [7] ont obtenu une valeur d'IC<sub>50</sub> de 0,04 mg/ml pour les extraits éthanolique de *Sherbournia bignoniifolia* (Rubiaceae), et [8] a également enregistré une forte activité avec un extrait acétonique de *Massularia acuminata*, dont l'IC<sub>50</sub> était d'environ 0,063 mg/ml par rapport au DPPH. En revanche, dans cette étude, [9] ont révélé une forte activité antiradicalaire pour l'extrait acétalique (IC<sub>50</sub> = 1,12 µg/ml), tandis que l'extrait éthanolique à 95% a montré une faible activité (IC<sub>50</sub> = 21,24 µg/ml) pour les feuilles d'*Anthocephalus cadamba* (Rubiaceae).

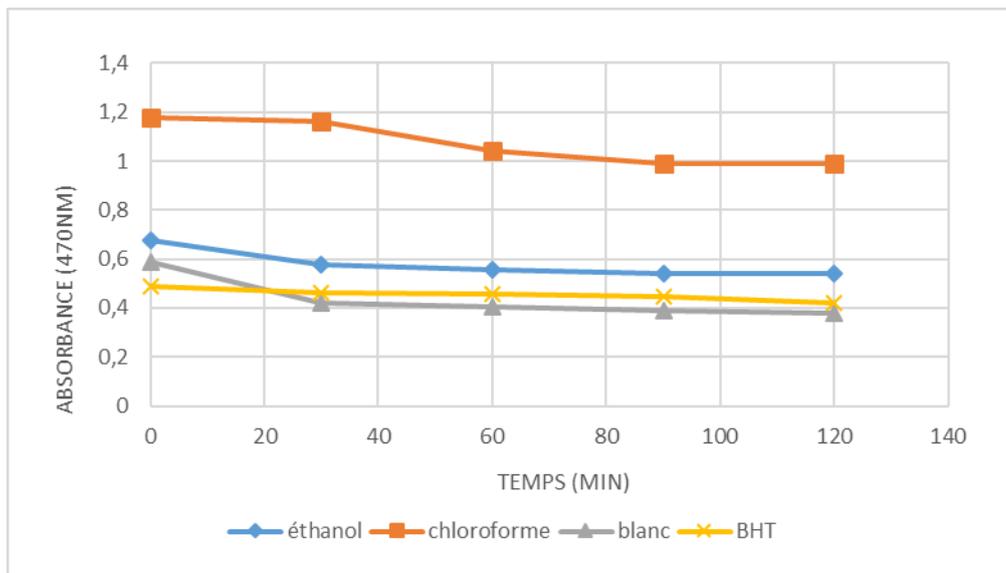
Les propriétés antioxydantes et antiradicalaires des extraits de *Plocama* rapportées pourraient être attribuées aux composés phénoliques présents, en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres et à complexer les métaux [10].

#### III.4.3/ Test de blanchissement de β-carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes, ces radicaux vont par la suite oxyder le β-carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur.

Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés d'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation ainsi que le blanchiment de la beta carotène.

Pour déterminer l'efficacité antioxydant des extraits, la progression de l'oxydation du  $\beta$ -carotène a été suivie d'un témoin négatif et de BHT comme témoin positif. L'absorbance a été mesurée toutes les demi-heures pendant une durée de 2 heures, avec une longueur d'onde de 470 nm. Les résultats sont illustrés à la Figure III.8



**Figure (III.8) :** Courbe d'absorbance de  $\beta$ -carotène en fonction du temps en présence des extraits et de référence, témoin négatif.

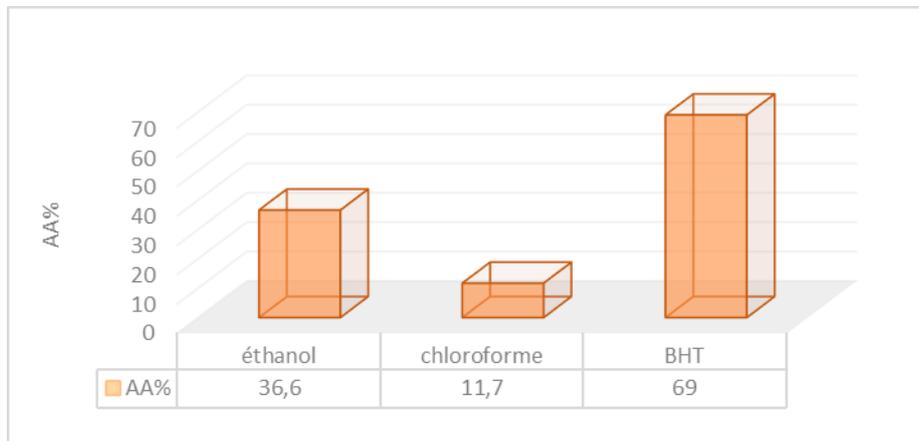
Les résultats présentés indiquent clairement une diminution de l'absorbance au fil du temps, ce qui démontre de manière concluante que le processus d'oxydation du  $\beta$ -carotène se déroule de manière continue. Conformément aux attentes, le BHT utilisé comme référence a montré la plus grande activité antioxydante, avec un taux de 69 %, confirmant ainsi sa forte capacité antioxydante.

L'extrait éthanolique a présenté une activité antioxydante plus élevée que l'extrait chloroforme, comme prévu. Les pourcentages d'inhibition correspondants sont estimés à 36,6 % et 11,7 % respectivement.

Les résultats obtenus de l'expérience sur le  $\beta$ -carotène peuvent être attribués aux différences de solubilité des molécules présentes dans les extraits, ainsi qu'à leur distribution entre les phases aqueuse et lipidique. Cela est dû au fait que le système de mesure utilisé pour cette évaluation implique une émulsion de lipides dans l'eau.

Les deux méthodes utilisées ont donné des résultats similaires, confirmant que l'extrait éthanolique présente une activité antioxydante plus élevée que l'extrait chloroforme. Cependant,

les extraits végétaux de cette espèce du genre *Plocama* ont montré une activité antioxydante plus faible par rapport aux références utilisées (vitamine C et BHT). Les résultats d'activités de blanchiment de tous les extraits et du standard sont résumés dans la figure (figure III.9) suivante :



**Figure (III.9) :** pourcentage d'activité antioxydant des extraits et de BHT de test  $\beta$ -carotène

### III.5/Activité antimicrobienne

L'évaluation des activités antibactérienne et antifongique a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion sur disques.

#### III.5.1/ Méthode de diffusion en milieu solide

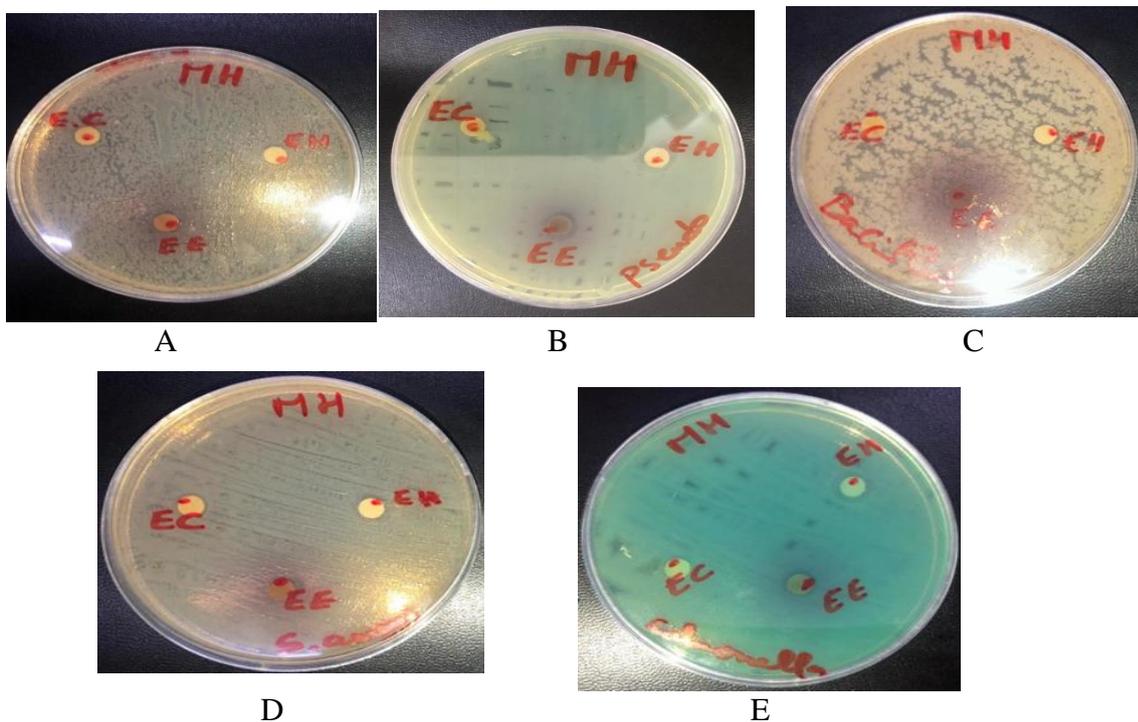
Pour évaluer l'activité antibactérienne, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu solide avec du milieu Muller-Hinton. De même, pour l'activité antifongique, nous avons utilisé le milieu Sabouraud. Dans chaque cas, des disques de papier Wattman stérile N°3 d'un diamètre de 6 mm ont été imprégnés avec chaque extrait à des concentrations de 50 mg/ml et 20 mg/ml pour l'activité antibactérienne, et de 20 mg/ml pour l'activité antifongique. Ces disques ont été placés à la surface de boîtes de Petri, aux côtés de disques imbibés de DMSO (témoins négatifs). Des disques contenant de la gentamicine commerciale ont été utilisés comme témoins positifs pour l'activité antibactérienne, et des disques contenant de l'éconazole ont été utilisés comme témoins positifs pour l'activité antifongique. Les boîtes ont ensuite été incubées pendant 24 heures à 37 °C pour les bactéries et à 25 °C pour les champignons. Les diamètres des zones d'inhibition entourant les disques contenant les échantillons à tester ont été mesurés.

III.5.2/Les résultats de l'activité antibactérienne :

Le tableau III.7 présente les résultats de l'activité antibactériennes par concentration de 50 mg/ml

**Tableau (III.7) :** Zones d'inhibition des extraits par une concentration de 50 (mg/ml) et de témoin (+) Et témoin (-) sur cinq souches bactériennes

	A	B	C	D	E
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Salmonelle</i> <i>Aboney</i> NCTC 6017
<b>Chloroforme</b>	-	7	-	8	7
<b>Éthanol</b>	7	8	-	7	7
<b>Cyclohexane</b>	9	11	-	9	10
<b>Gentamicine (Témoin +)</b>	25	19	23	23	20
<b>DMSO (Témoin -)</b>	-	-	-	-	-



**Figure (III.10) :** Résultats des tests d'activité antibactérienne pour la concentration de 50 (mg/ml)

La souche de *Bacillus cereus* s'est révélée être la plus résistante parmi toutes les souches lorsqu'elle était exposée à divers extraits de plantes. Aucune zone d'inhibition n'a été observée autour des disques, sauf pour le témoin positif qui a montré une zone d'inhibition de 23 mm.

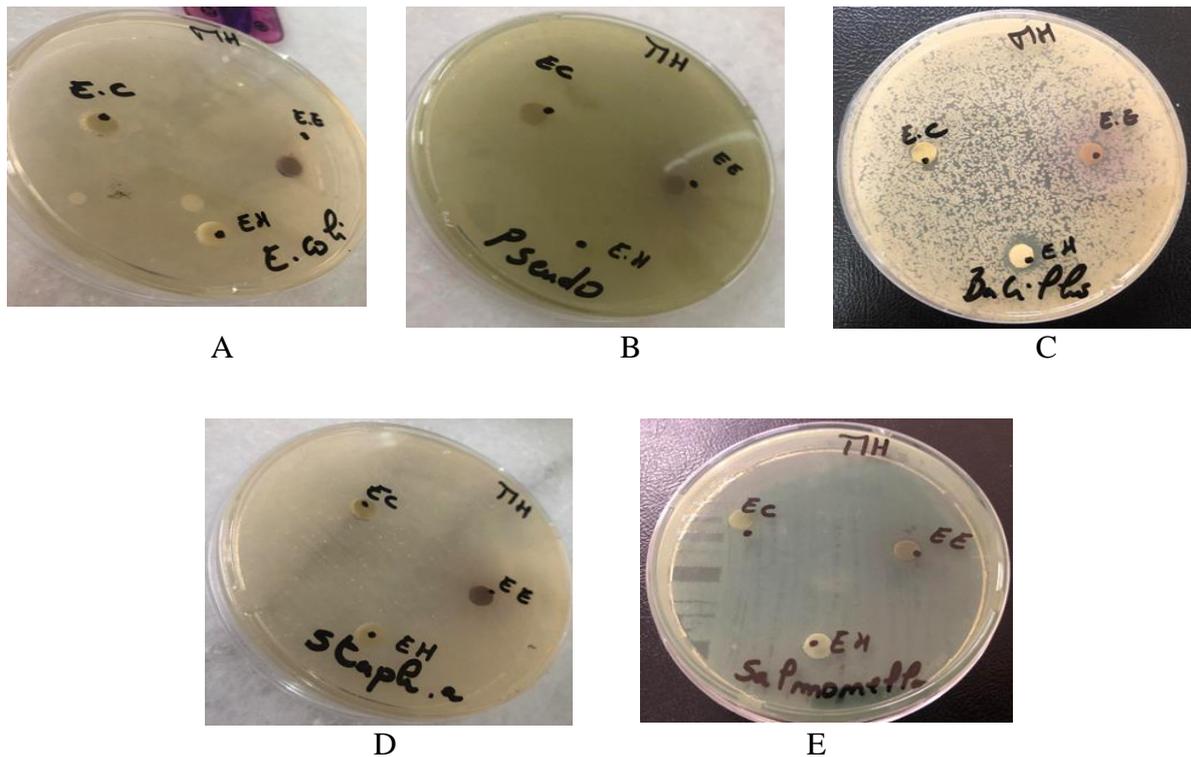
Les résultats indiquent que l'extrait cyclohexane a montré les niveaux les plus élevés d'activité contre les bactéries Gram négatives telles que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella aboney*, avec des diamètres d'inhibition d'environ 9 mm, 11 mm et 10 mm respectivement. Cependant, des activités légèrement moins importantes à inexistantes ont été observées contre les bactéries Gram positives comme *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, avec un diamètre d'inhibition de 9 mm. Ces résultats révèlent que les bactéries Gram négatives étaient plus sensibles à cet extrait que les bactéries Gram positives.

En revanche, les cinq bactéries ont montré une résistance complète à l'extrait éthanolique et à l'extrait chloroforme. Il est probable que les composés responsables des effets antibactériens soient des diterpénoïdes phénoliques, qui constituent les principaux composés de la fraction apolaire des extraits végétaux. Ces composés sont hautement lipophiles et peuvent donc être extraits avec des solvants de faible polarité tels que l'hexane. Cela pourrait expliquer la résistance des bactéries à l'extrait éthanolique et à l'extrait chloroforme.

Le tableau III.8 présente les résultats de l'activité antibactériennes par une concentration de 20 mg/ml.

**Tableau (III.8) :** Zones d'inhibition des extraits par une concentration de 20 (mg/ml) et de témoin (+) Et témoin (-) sur les cinq souches bactériennes

	A	B	C	D	E
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Salmonelle Aboney</i> NCTC 6017
<b>1 Chloroforme</b>	-	-	-	-	-
<b>2 Éthanol</b>	-	-	-	-	-
<b>3 Cyclohexane</b>	-	-	10	-	-
<b>4 Gentamicine (Témoin +)</b>	25	19	23	23	20
<b>5 DMSO (Témoin -)</b>	-	-	-	-	-



**Figure (III.11) :** Résultats des tests d'activité antibactérienne pour la concentration de 20 (mg/ml).

Nous pouvons conclure que la plante étudiée n'a eu aucun effet sur les souches bactériennes testées,

A l'exception de l'extrait Cyclohexane, qui a une activité contre la bactérie *Bacillus cereus* avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 10 mm et la raison de l'absence d'activité des trois extraits contre les quatre souches bactériennes que les concentrations en principes actifs trouvés dans les extraits de plantes sont faibles [11].

### III.5.3/Les résultats de l'activité antifongique

Après 24 heures d'incubation à 25°C, les boîtes de Petri contenant les échantillons malaxés ont été récupérées afin de mesurer les diamètres des zones d'inhibition des extraits chloroformique, cyclohexanolique, et éthanolique contre les deux champignons testés : *Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans*. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant (Tableau III.9).

**Tableau (III.9) :** Zones d'inhibition des extraits par une concentration de 20 mg/ml et de témoin (+) et témoin (-) dans deux champignons

	A	B
	<i>Aspergillus Brasiliensi</i> ATCC16404	<i>Candidat Albicans</i> ATCC10231
<b>Chloroforme</b>	-	-
<b>Éthanol</b>	-	-
<b>Cyclohexane</b>	14	-
<b>Econazole (Témoin +)</b>	33	16
<b>DMSO (Témoin -)</b>	-	-



**Figure (III.12) :** Résultats des tests de l'activité antifongique pour la concentration de 20 (mg/ml)

En ce qui concerne l'activité antifongique, la plus grande zone d'inhibition a été observée contre *Aspergillus Brasiliensis* avec un diamètre de 14 mm pour l'extrait cyclohexane. En revanche, aucun effet antifongique n'a été détecté pour les trois extraits testés contre *Candida Albicans* (Tableau III.9).

La différence de pouvoir antifongique entre les différents extraits peut être attribuée à leurs compositions chimiques. Les extraits peuvent contenir des composés spécifiques qui présentent une activité antifongique contre certains types de champignons, tandis qu'ils peuvent être moins efficaces contre d'autres. Les interactions complexes entre les composés présents dans les extraits et les mécanismes d'action des champignons peuvent également influencer leur activité antifongique.

Il est important de noter que ces résultats sont spécifiques aux souches de champignons et aux extraits utilisés dans cette étude particulière. Des études supplémentaires sont nécessaires pour explorer davantage l'activité antifongique des extraits et comprendre les mécanismes sous-jacents à leur efficacité contre différents types de champignons.

### III.6/Etude du pouvoir inhibiteur des extraits d'une espèce du genre *Plocama* sur la corrosion de l'acier X48 en milieu HCl 1M

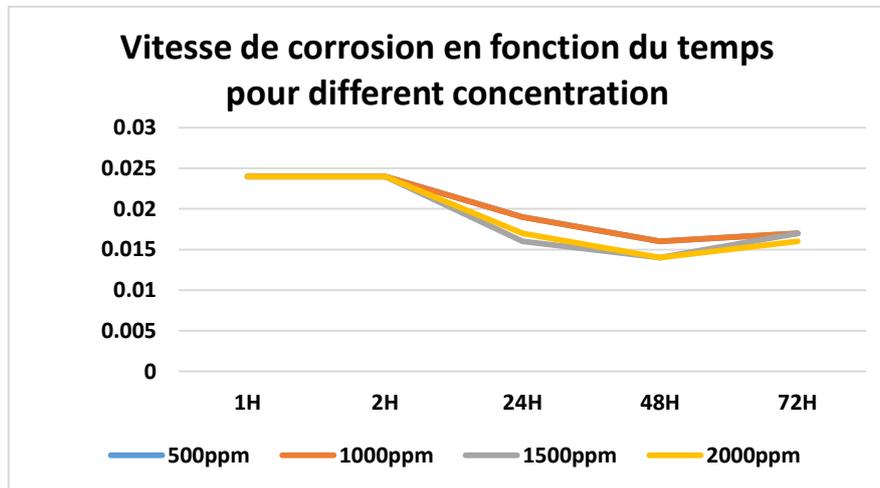
#### III.6.1/Extrait chloroformique

C(ppm)	Temps	$\Delta m(\text{mg})$	S (cm <sup>2</sup> )	$V_{\text{Corr}} (\text{mg}/\text{cm}^3 \cdot \text{h})$	$V_{\text{Corr moy}} (\text{mgcm}^3 \cdot \text{h})$	E (%)
500	1h	0.1	4.16	0.024	0.02	75
	2h	0.2	4.16	0.024		77.77
	24h	1.9	4.16	0.019		54.47
	48h	3.2	4.16	0.016		42.85
	72h	5.2	4.16	0.017		26.08
1000	1h	0.1	4.16	0.024	0.02	75
	2h	0.2	4.16	0.024		77.77
	24h	1.9	4.16	0.019		54.76
	48h	3.2	4.16	0.016		42.85
	72h	5.2	4.16	0.017		26.08
1500	1h	0.1	4.16	0.024	0.019	75
	2h	0.2	4.16	0.024		77.77
	24h	1.6	4.16	0.016		61.90
	48h	2.9	4.16	0.014		50
	72h	5.2	4.16	0.017		26.08
2000	1h	0.1	4.16	0.024	0.019	75
	2h	0.2	4.16	0.024		77.77
	24h	1.7	4.16	0.017		59.52
	48h	2.8	4.16	0.014		50
	72h	4.9	4.16	0.016		30.43

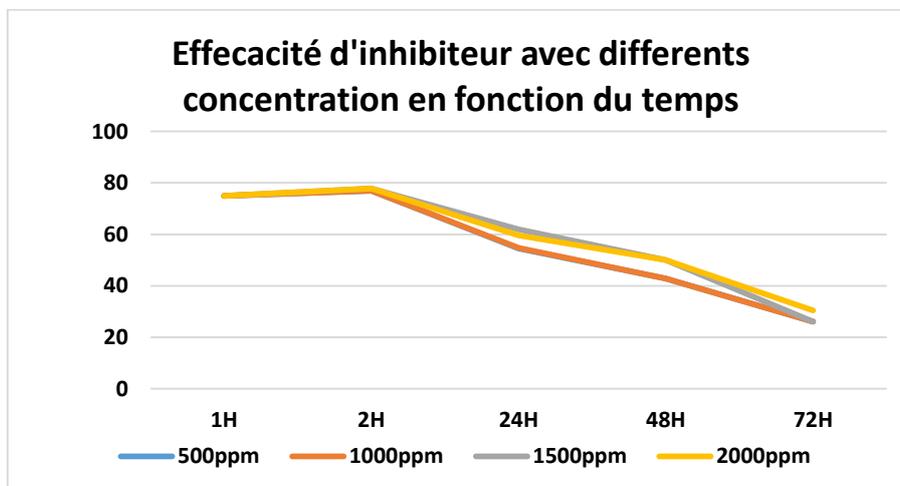
Le tableau III.10 regroupe les valeurs de la vitesse de corrosion ( $V_{corr}$ ) de notre matériau et l'efficacité inhibitrice E (%) pour différentes concentrations de l'extrait chloroforme, déterminées par gravimétrie pour une durée d'immersion de 72 heures à température ambiante.

**Tableau (III.10):** Vitesses de corrosion et efficacités inhibitrices pour différents concentration de l'extrait chloroformique pour la corrosion de l'acier X480 dans HCl pendant 72h.

Les résultats ont montré que la vitesse de corrosion de l'acier XC48 était réduite en présence de différentes concentrations de l'extrait chloroformique, ce qui a révélé les propriétés inhibitrices de l'extrait sur la corrosion de l'acier dans l'environnement considéré. Il s'agit d'une inhibition provoquée par l'adsorption de molécules inhibitrices sur la surface de l'acier, qui bloque les sites actifs du métal, formant éventuellement une couche protectrice contre les substances agressives. On constate que à les quatres concentrations 500, 1000, 1500 et 2000 ppm, l'efficacité de l'inhibiteur de corrosion atteint une valeur maximale de 77.77 % après 2 heures d'immersion.



**Figure (III.13):** variation de la vitesse de la corrosion d'extrait chloroformique en fonction de temps avec inhibiteur dans HCl 1M.



**Figure (III.14):** Variation de l'efficacité inhibitrice d'extrait chloroformique en fonction de temps avec inhibiteur dans HCl 1M.

L'analyse des courbes indique que la vitesse de corrosion de l'acier dans un milieu d'acide chlorhydrique (HCl) 1M diminue à mesure que la concentration de l'inhibiteur augmente, ce qui indique une augmentation de l'efficacité. L'efficacité maximale, atteignant 77,77 %, est observée à deux concentrations d'extrait chloroforme de 1500 et 2000 ppm. Cependant, il est important de noter que cette efficacité diminue après 48 heures.

**III.6.2/Extrait Éthanolique**

Le tableau III.11 regroupe les valeurs de la vitesse de corrosion ( $V_{corr}$ ) de notre matériau et l'efficacité inhibitrice E (%) pour différentes concentrations de l'extrait de méthanol, déterminées par gravimétrie pour une durée d'immersion de 72 heures à température ambiante.

**Tableau (III.11) :** Représente les valeurs de Vitesses de corrosion  $V_{corr}$  de notre pièce pour différentes concentrations de l'extrait éthanolique déterminés par gravimétrie pour une période d'immersion de 72heures.

C (ppm)	Temps	$\Delta m$ (mg)	S (cm <sup>2</sup> )	$V_{Corr}$ (mg/cm <sup>3</sup> .h)	$V_{Corr\ moy}$ (mg/cm <sup>3</sup> .h)	E(%)
500	1h	0.1	4.16	0.024	0.0194	75
	2h	0.2	4.16	0.024		77.77
	24h	1.8	4.16	0.018		57.14
	48h	3	4.16	0.016		42.85
	72h	4.9	4.16	0.015		34.78
1000	1h	0.1	4.16	0.024	0.0194	75
	2h	0.2	4.16	0.024		77.77
	24h	1.8	4.16	0.018		57.14
	48h	3.1	4.16	0.015		46.42
	72h	4.8	4.16	0.016		30.43
1500	1h	0.1	4.16	0.024	0.0196	75
	2h	0.2	4.16	0.024		77.77
	24h	1.8	4.16	0.018		57.14
	48h	3.2	4.16	0.016		42.85
	72h	4.7	4.16	0.016		30.43
2000	1h	0.1	4.16	0.024	0.0184	75
	2h	0.2	4.16	0.024		77.77
	24h	1.5	4.16	0.015		64.28
	48h	2.9	4.16	0.014		50
	72h	4.5	4.16	0.015		34.78

Les résultats obtenus indiquent que la vitesse de corrosion de l'acier XC48 est réduite en présence de différentes concentrations de l'extrait éthanolique. Cela démontre les propriétés inhibitrices de l'extrait sur la corrosion de l'acier dans l'environnement étudié. Cette inhibition est due à l'adsorption de molécules inhibitrices à la surface de l'acier, ce qui bloque les sites actifs du métal et forme éventuellement une couche protectrice contre les substances agressives.

Il est intéressant de noter que, quelle que soit la concentration (500, 1000, 1500 ou 2000 ppm), l'efficacité de l'inhibiteur de corrosion atteint une valeur maximale de 77,77 % après une immersion de 2 heures. Cela suggère que l'extrait éthanolique présente une forte capacité d'inhibition de la corrosion de l'acier XC48 dans cet environnement spécifique.

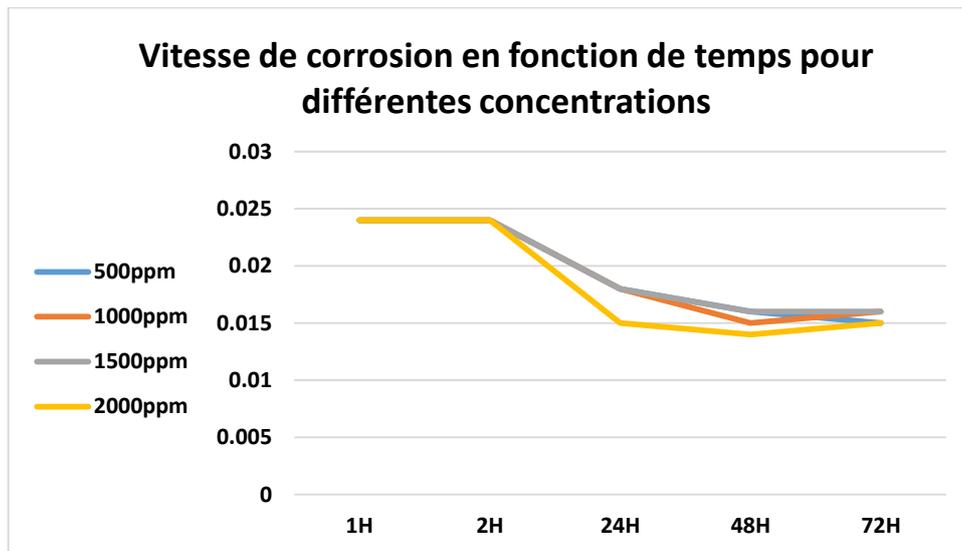


Figure (III.15): Variation de la vitesse de la corrosion d'extrait éthanolique en fonction de temps avec inhibiteur dans HCl 1M

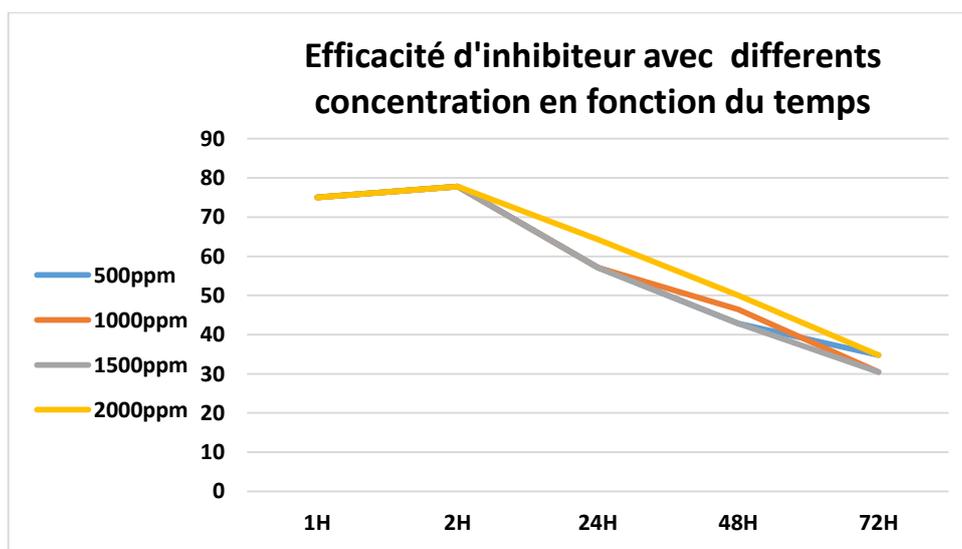


Figure (III.16): Variation de l'efficacité inhibitrice d'extrait éthanolique en fonction de temps avec inhibiteur dans HCl 1M

En analysant les courbes, il est observé que la vitesse de corrosion de l'acier dans un milieu HCl 1M diminue à mesure que la concentration de l'inhibiteur augmente, ce qui indique une augmentation de l'efficacité. L'efficacité maximale de 77,77 % est atteinte aux quatre concentrations d'extrait éthanolique (500, 1000, 1500 et 2000 ppm). Cependant, il est important de noter que cette efficacité diminue après 48 heures pour les concentrations de 500, 1000 et 1500 ppm, et après 24 heures pour la concentration de 2000 ppm.

### III.7/Conclusion

Les résultats obtenus *in vitro* ne représentent qu'une étape préliminaire dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Il est nécessaire de réaliser des études *in vivo* pour obtenir une compréhension plus approfondie des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cette plante. Ces études *in vivo* permettront d'obtenir une perspective plus complète sur les effets des extraits et de déterminer leur potentiel réel en tant que substances biologiquement actives.

## Références bibliographiques

1. Iserin P.(2001à. Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse, 10, 335.
- 2 . Saad S.(2017). "Analyse de la diversité chimique par les composés phénoliques", Marrubium deserti de Noé. "Etude ethnobotanique et propriétés médicinales". Thèse de doctorat, université Houari Boumediene USTHB/ALGER, 110.
3. Makhloufi A.(2013). "Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Béchar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru". Thèse de Doctorat, Université Aboubaker Belkaid, 136.
4. M. A. Soobrattee, T. Bahorun, V. Neergeen, Kreshna Googoolye, O. Aruoma. (2008), "Assessment of the content of phenolics and antioxidant actions of the Rubiaceae, Ebenaceae, Celastraceae, Erythroxylaceae and Sterculaceae families of Mauritian endemic plants. *Toxicology in Vitro* " 22 (1), 45-56.
5. Sristisri U. (2013). "Screening of phytochemicals, nutritional status, antioxidant and antimicrobial activity of *Paederia foetida* Linn. From different localities of Assam", India Dept of Life Sciences, Dibrugarh University, Dibrugarh 786004, Assam, India Dept. of Life Sciences, Dibrugarh University, Dibrugarh 786004, Assam, India. *journal of pharmacy research*. 7 :139–14.
6. Ismaili R., Houbairi S., Lanouari S., Moustair K., Lamiri A.(2017). "Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines" (13):1857-7431.
7. Allain P. (1996). *Les médicaments*. Editions ESTEM, Paris, 414 .
8. U. Maloueki, K. P. Kunyima, I. D. Mbomba, N. A. Dani, K. A. Lukuka, N. J. Lami, P. T. Mpiana, K. N. Ngbolua, K. S. P. Ndimbo, N. B. Mbomba & C. D. Musuyu Muganza. (2015). "Activités antioxydante et antiplasmodiale d'extraits de *Massularia acuminata* (Rubiaceae) Phytothérapie" 13, 389–395.
9. Madhu C., Upendra S., Neeraj K., Bikram S. et Satwinderjeet K. (2012). "Antioxidant activity and identification of bioactive compounds from leaves of *Anthocephalus cadamba* by ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time of flight mass spectrometry" *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 5(12), 977-985
10. Bahorun R. (1997). "Native phytotherapy among rural population of District Bhadrak, Orissa, in *Ethnobiology in human welfare*". Deep publications, New Delhi: 163-153.

11. Macheix, J., Fleurit, A., Jay-Allemand, C. (2005). "Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique". PPUR Presses polytechniques, 192.

## Conclusion générale

Depuis l'Antiquité, les plantes ont fait partie intégrante de la vie humaine, tant dans leur utilisation comme nourriture que dans leur usage thérapeutique. Aujourd'hui, de nombreuses plantes aromatiques et médicinales, parmi lesquelles les plantes du genre *Plocama*, sont largement utilisées dans différents domaines tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétique et l'alimentation. Ces plantes médicinales continuent d'être une source fiable de substances bioactives, reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques.

Cette recherche a pour objectif d'évaluer la capacité des plantes médicinales et aromatiques pour traiter quelques maladies. Pour cela notre étude a été d'examiner le domaine botanique, chimique et biologique de la famille des Rubiaceae. Nous avons également étudié la composition chimique et évalué l'activités antioxydantes, antibactériennes et antifongique d'une espèce de genre *Plocama*.

D'après l'analyse qualitative effectuée par les tests phytochimiques il s'est avéré que notre plante, est une plante riche en métabolites secondaires : les terpènes, les tanins, les quinones.

Dans cette étude, les teneurs médians de polyphénols et de flavonoïdes et des tannins dans les extraits de plantes ont été estimés par des méthodes colorimétriques. Pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des deux extraits chloroformique et éthanolique deux méthodes antioxydantes ont été évaluée in vitro : piégeage des radicaux DPPH et le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène, Pour les deux méthodes antioxydantes utilisées la meilleure capacité antioxydante a été observée sur l'extrait éthanolique mais sa reste une activité faible par rapport notre standard l'acide ascorbique. L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique été par la méthode de diffusion en milieu gélosé, l'extrait cyclohexane montré une activité antibactérienne et antifongique remarquable par rapport aux autres extraits.

En perspective, il est intéressant de :

L'orientation de la recherche scientifique est de réaliser des recherches approfondies sur les composants chimiques et leurs structures, et de déterminer les différentes activités biologiques de chaque composé in vitro et in vivo. L'identification de nouvelles substances bioactives peut répondre à différents problèmes de santé et servir de futures alternatives aux drogues de synthèse.